FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1937 N° 1

THÈSE

présentée pour le Doctorat en médecine

par

KUHLMANN HÉLÈNE-AMÉLIE

née à Obernai (Bas-Rhin) le 20 Février 1908

Le Contrôle hématologique du Centre de Transfusion sanguine d'urgence de l'Hôpital Civil de Strasbourg

Président : **M. CANUYT,** *Professeur*

LES ÉDITIONS UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG
1A, Place de l'Université — Quai du Maire Diétrich, 1
STRASBOURG
R. C. Strasbourg 3677

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1937 N° 1

THÈSE

présentée pour le Doctorat en médecine

par

KUHLMANN HÉLÈNE-AMÉLIE

née à Obernai (Bas-Rhin) le 20 Février 1908

Le Contrôle hématologique du Centre de Transfusion sanguine d'urgence de l'Hôpital Civil de Strasbourg

Président : **M. CANUYT,** *Professeur*

LES ÉDITIONS UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG
1A, Place de l'Université — Quai du Maire Diétrich, 1
STRASBOURG
R. C. Strasbourg 3677

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Doyen ..... MM. FORSTER ✲ ❀ I.
Assesseur ..... WEILL

Professeurs :

Embryologie	MM. ANCEL ✲ ❀ I.
Anatomie	FORSTER ✲ ❀ I.
Histologie	BOUIN O. ✲ ❀ I.
Physiologie	SCHAEFFER ❀ I.
Physique biologique	VLES ✲ ❀ I.
Chimie biologique	NICLOUX O. ✲ ❀ I.
Anatomie pathologique	MASSON ✲ ❀ I.
Pharmacologie, Médecine expérimentale	SCHWARTZ ❀ I.
Hygiène, Bactériologie	BORREL C. ✲ ❀ I.
Médecine légale	CHAVIGNY C. ✲ ❀ I.
Clinique médicale	MERKLEN ✲ ❀ I. AMBARD ✲ ❀ I.
Clinique chirurgicale	LERICHE O. ✲ ❀ I. STOLZ ✲ ❀ I.
Clinique ophtalmologique	WEILL ✲ ❀ I.
Clinique dermatologique	PAUTRIER O. ✲ ❀ I.
Clinique psychiatrique	PFERSDORFF ✲ ❀ I.
Clinique neurologique	BARRE ✲ ❀ I.
Clinique gynécologique et accouchements	REEB ❀ I.
Clinique infantile	ROHMER ✲ ❀ I
Clinique oto-rhino-laryngologique	CANUYT ✲ ❀ I.
Hydrologie thérapeutique et Climatologie.....	FONTES ❀ I.

Professeurs sans chaire :

MM. ARON Max. ❀ I. M. GERY ❀ I.
BELLOCQ ❀ I.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Chargés de cours et Agrégés :

MM. BENOIT ❀ A.	MM. KREIS ❀ A.
FONTAINE ❀ A.	LAROUSSE ❀ A.
GELMA ❀ I.	LE GUYON
GUNSETT ✲ ❀ I.	REISS
HANNS ✲ ❀ I.	SIMONIN ✲ ❀ A.
HUMBERT ✲ ❀ A.	VAUCHER ✲ ❀ I.
KAYSER ❀ A.	WAITZ
KELLER ❀ I.	WEISS A. ❀ A.
	WOLF ❀ A.

Agrégé libre : M. SIMON ✲ ❀ A.
Directeur de la Clinique dentaire : M. ROMEY ✲ ❀ A.
Chargés d'un cours complémentaire : MM. MEYER M. ❀ A., RŒDERER

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A MES PARENTS

Hommage de ma profonde affection et de ma vive reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CANUYT

Professeur de Clinique oto-rhino-laryngologique
Directeur du Centre de Transfusion sanguine d'urgence
de l'Hôpital civil de Strasbourg

Qui a bien voulu nous faire le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VAUCHER

Qui fut pour nous un maître bienveillant.

Nous lui devons une reconnaissance toute particulière.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SIMONIN

Professeur agrégé de Médecine légale

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et guidé de ses conseils.

A MON JURY DE THÈSE

INTRODUCTION

La transfusion sanguine est devenue de nos jours un procédé thérapeutique très fréquemment utilisé aussi bien en chirurgie qu'en médecine.

Elle est connue et employée depuis très longtemps. Déjà dans l'antiquité on aurait eu recours à la transfusion considérée alors comme un puissant moyen de rajeunissement. Aujourd'hui, bien qu'elle ne doive pas constituer une panacée universelle, ses indications chirurgicales et médicales s'étendent tous les jours.

Nous ne voulons pas faire l'historique de la transfusion sanguine; nous n'avons pas non plus la prétention d'insister sur les très nombreuses indications cliniques qu'elle comporte; cela dépasserait notre compétence.

Nous tenons simplement à souligner la différence qui existe entre les grandes transfusions dites chirurgicales, donnant lieu à de véritables résurrections dans le cas des hémorragies graves, et les transfusions dites médicales, indiquées dans de toutes autres criconstances.

Toute transfusion, soit chirurgicale, soit médicale, doit être précédée d'un contrôle hématologique du sang du donneur et du receveur.

L'organisation d'un centre de transfusion sanguine d'urgence comme celui qui a été organisé depuis l'année 1932, par Monsieur le Professeur Canuyt, aux Hospices civils de Strasbourg, exige la création d'un laboratoire de sérologie, car actuellement une transfusion scientifiquement menée doit comporter des recherches sérologiques très précises et très minutieuses.

Dans ce domaine, nous avons eu l'honneur et la bonne fortune d'être associée aux travaux du Docteur Simonin, chargé spécialement du contrôle hématologique du Centre de Transfusion sanguine d'urgence de l'Hôpital civil de Strasbourg.

Nous avons pu ainsi participer à toutes ses recherches et nous rendre compte de leurs difficultés.

Les problèmes hématologiques de la transfusion de sang sont en général peu connus. Aussi nous paraît-il utile de consacrer notre thèse à l'étude détaillée de toutes les questions sérologiques que soulève l'organisation d'un centre de transfusion sanguine, en faisant état de lectures que nous avons faites et de résultats trouvés au cours des séances de contrôle hématologique.

Chapitre I

L'ISO-HEMO-AGGLUTINATION

L'iso-hémo-agglutination est un phénomène biologique qui a lieu dans certains mélanges séro-globulaires provenant d'individus différents de la même espèce.

Elle se caractérise par la formation de grumeaux plus ou moins gros, flottant dans le sérum limpide. Ces amas globulaires, une fois formés, persistent après agitation. Ils résistent à la dilution à l'eau physiologique.

Une autre solution dont les globules ne sont pas agglutinés par le sérum, reste homogène, d'une couleur rosée, uniforme : par le repos, les globules rouges se déposent au fond du tube, le sérum limpide surnage. Le mélange séro-globulaire redevient homogène si on secoue le tube.

Pour la plupart des sérologues, l'iso-hémo-agglutination est l'expression de l'incompatibilité de deux sangs d'individus de la même espèce.

D'après les données de la chimie colloïdale, l'agglutination serait un phénomène électro-colloïdo-chimique qui se décompose en deux phases.

1. Une phase de liaison entre l'agglutinine et les substances agglutinables. C'est l'absorption de l'anticorps

par l'antigène. En plus, il y aurait des processus chimiques.

2. Une phase de formation d'agglutinats globulaires qui serait due à la diminution de la charge électrique des globules : d'où perte progressive du pouvoir de répulsion que possède chaque globule.

Pour Eden, il y aurait possibilité d'inhibition ou d'accélération de la réaction d'agglutination par les facteurs physico-chimiques (14-15).

LES GROUPES D'ISO-AGGLUTINATION DE LANDSTEINER

Landsteiner a découvert, en 1900, l'iso-agglutination chez l'homme. Il a pu démontrer par la suite qu'il s'agit d'un phénomène physiologique sur lequel on peut tabler pour grouper les sangs humains en trois groupes. Von Decastello et Sturli, en procédant à de nombreuses déterminations de groupes sanguins, trouvent un 4e groupe, très rare.

Von Dungern, Hirszfeld et Bernstein démontrent que le groupe sanguin est constitutionnel, et se transmet des parents aux enfants, suivant les lois de l'hérédité mendélienne (4). D'autre part, « dans un groupement éthnique déterminé, la présence respective des groupes sanguins ne subit pas de variations; à la transmission héréditaire du groupe, à l'existence d'une proportion constante dans une même population est liée nécessairement celle de sa fixité chez le même individu » (3).

L'organisation d'un Centre de Transfusion sanguine d'urgence repose sur le dogme de la fixité des groupes sanguins humains.

TABLEAU DES CONCORDANCES
DES GROUPES D'ISO-AGGLUTINATION DE LANDSTEINER

1. Moss 1910	Groupe I	Groupe II	Groupe III	Groupe IV
2. Jansky 1907	Groupe IV	Groupe II	Groupe III	Groupe I
3. Société des Nations 1924	Groupe ABo	Groupe A β	Groupe B α	Groupe 0 α β
4. Conférence Internationale de Microbiologie de Paris 1928	Groupe A B ni anti-A, ni anti-B	Groupe A anti-B	Groupe B anti-A	Groupe 0 anti-A anti-B

Dans ce travail, nous nous servirons de la terminologie adoptée par la Société des Nations. Elle ne peut pas prêter à confusion et évoque en même temps la règle de LANDSTEINER, à savoir que : dans un sang donné, auprès d'un iso-agglutinogène, contenu dans les globules, on trouve dans le sérum, toutes les iso-agglutinines inactives sur ce même agglutinogène.

Les deux caractères globulaires ou agglutinogènes A et B admis par LANDSTEINER, correspondent à deux agglutinines, propriétés sériques α et β. Par définition, le sérum α agglutine les globules A. Par définition, le sérum β agglutine les globules B. O signifie absence d'agglutinogène et o signifie absence d'agglutinine. Il est facile de retenir les groupes de LANDSTEINER sous forme de formule mathématique.

$$(A + \beta) + (B + \alpha) = (A + B + o) + (O + \alpha + \beta) \quad [5]$$

LES SOUS-GROUPES A 1 β, A 2 β et A 1 B o et A 2 B o.

Les subdivisions du groupe A β en A 1 β et A 2 β (ou A-grand-β et A-petit-β) et du groupe A B o en A 1 B o et A 2 B o, sont connus depuis 1911 (Von Dungern et Hirszfeld). On admit pendant longtemps (Lattès) que les différences n'étaient que quantitatives et résultaient de la faible activité de l'antigène A 2.

Ces dernières années, les auteurs danois et allemands sont arrivés à prouver qu'il s'agit de propriétés antigéniques qualitativement différentes, constitutionnelles et héréditaires (6-7). Les individus des groupes A 2 β et A 2 B o sont environ quatre fois moins fréquents que ceux des groupes A 1 β et A 1 B o.

Procédés de mise en évidence des sous-groupes de A β.

1. Thomsen et ses collaborateurs emploient des procédés d'absorption du sérum α par les globules A 2. (On peut remplacer le sérum α par des sérums immunitaires d'origine animale). L'agglutinine α est absorbée en plus grande quantité par le type A 1 que par le type A 2. Pour absorber une certaine quantité d'agglutinine, il faut plus de globules A 2 qu'il n'en faut de globules A 1.

Thomsen a pu différencier les deux sous-groupes de A β en les éprouvant par l'hémolysine Anti-A (contenue dans le sérum α et dans le sérum α β) [8].

2. D'autres auteurs préfèrent employer des réactions d'inhibition par la pepsine (9).

3. Enfin, M. Blinov indique également une réaction d'inhibition pouvant être faite sur lame de verre (10).

L'auteur russe part du principe que le sérum d'un groupe sanguin déterminé possède un certain pouvoir

inhibiteur sur l'agglutination des hématies du même groupe.

Technique. — 1 goutte de sérum α dilué à 1/2 est mise en contact (par inclinaison de la lame de verre) avec II gouttes de sérum β et une petite goutte de globules A : s'il n'y a pas d'agglutination dans les premières 5 à 6 minutes, il s'agit du groupe A 2 β. Si l'agglutination est positive, on est en présence du groupe A 1 β.

L'épreuve est simple et peut toujours être faite.

L'existence des sous-groupes de A β donne fréquemment lieu à des déterminations de groupe erronées.

Ainsi M. Worsae cite le cas d'un enfant descendant d'une mère A B et dont le groupe semblait être O (les globules n'étaient agglutinés ni par le sérum α ni par le sérum β) ce qui constitue une exception à la règle de Bernstein. Seules les épreuves d'absorption mirent en évidence un antigène A 2 dans les globules de l'enfant. La présence de cet antigène fut confirmée un mois plus tard par l'agglutination des globules de l'enfant avec un sérum α (11).

Les auteurs danois admettent qu'il en est de même pour le célèbre cas de Haselhorst (mère A B et enfant O) [12].

Certains changements de groupe peuvent également être mis sur le compte de l'existence du sous-groupe A 2.

Ainsi M. Barbier cite le cas d'un infirmier, donneur universel qui, après une maladie sanguine (syndrôme hémorragique), présente le type sérologique A β.

Il s'agit certainement d'un cas du genre de ceux cités plus haut (13).

Chapitre II

LE CONTROLE HÉMATOLOGIQUE DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE D'URGENCE DE L'HOPITAL CIVIL DE STRASBOURG

Choix du donneur au point de vue sérologique.

Qui peut, sérologiquement, être donneur ?

a) Peut être donneur celui qui fait partie du même groupe sanguin que le receveur ;

b) Dans certaines conditions et généralement sans inconvénient, on peut utiliser comme donneurs des sujets de groupes sanguins différents, dont les globules rouges ne sont pas susceptibles d'être agglutinés par les anticorps du sang du receveur.

Ces conditions sont remplies :

1. Si le receveur fait partie du groupe A B o : c'est le groupe des receveurs universels ;

2. Si le donneur fait partie du groupe O $\alpha\beta$: c'est le groupe des donneurs universels (1).

Ce sont ces derniers que l'on recrute aux séances d'identification de groupes sanguins du Centre de Transfusion sanguine d'urgence. Leurs globules rouges, ne

contenant pas d'agglutinogène, ne peuvent pas être agglutinés par les agglutinines existant dans le sérum du receveur.

Ainsi, on peut transfuser un sang du groupe O $\alpha\beta$ sans connaître le groupe sanguin du receveur.

Le contrôle hématologique du Centre de Transfusion sanguine d'urgence de l'Hôpital civil de Strasbourg s'effectue en deux temps étant donné qu'on examine :

1. les globules rouges.
2. le sérum.

des candidats qui se présentent.

1. *Triage des sujets.* Les globules des candidats-donneurs sont éprouvés par des sérums-tests, c'est-à-dire que la détermination de leur groupe sanguin se fait par la technique de Beth-Vincent.

Le sujet se présente successivement devant deux techniciens qui prélèvent à l'aide du coin d'une lame de verre une petite goutte de sang que l'on fait sourdre de la pulpe digitale du sujet, par piqûre à l'aiguille de Francke, après lavage préalable à l'éther. Cette trace de sang est mélangée à une grosse goutte de sérum-test β. De la même manière, l'opérateur prélève successivement deux autres gouttelettes de sang (en se servant chaque fois d'un autre coin, propre, non utilisé, de la lame de verre) pour les mélanger, l'une à une goutte de sérum-test α, l'autre à une goutte de sérum-test $\alpha\beta$, les trois échantillons de sérums-tests β, α, $\alpha\beta$, ayant été préalablement déposés sur une lame de verre ou sur un carton de bristol. La lame est balancée pendant une à deux minutes entre les doigts de l'opérateur, pour éviter la sédimentation. C'est à ce moment que doivent apparaître les réactions d'agglutination, s'il y en a. Notre maître, le Professeur Simonin, a montré dans un récent article qu'il est facile de conclure au groupe sanguin du candidat à l'aide d'une équation biologique très simple (16) :

1. Si X + α = O
   Si X + β = O
   Si X + $\alpha\beta$ = O

X = globules O, car ni α ni β ne provoquent d'agglutinations. D'où absence de propriété agglutinogène sur les globules.

Le candidat appartient donc d'après ses globules, au groupe O $\alpha\beta$, c'est-à- dire au groupe des donneurs universels.

2. Si X + α = O
   Si X + β = +
   Si X + $\alpha\beta$ = +

X = globules B, car β provoque une agglutination qui indique la présence de B sur les globules.

Le candidat appartient au groupe B α.

3. Si X + α = +
   Si X + β = O
   Si X + $\alpha\beta$ = +

X = globules A, car l'agglutination est due à α, qui rencontre A.

Le candidat appartient au groupe A β.

4. Si X + α = +
   Si X + β = +
   Si X + $\alpha\beta$ = +

X = globules A B, car α et β donnent des agglutinations positives. A et B se trouvent par conséquent sur les globules.

Le candidat fait partie du groupe A B o qui est le groupe des receveurs universels.

X signifie globules rouges du candidat. + indique agglutination positive. O agglutination négative; α, β, et $\alpha\beta$ représentent les trois gouttes de sérum-test.

On recrute comme donneurs universels les sujets dont les globules sont du groupe O $\alpha\beta$. On prélève chez ces individus quelques cc. de sang par ponction veineuse pour la réaction de Bordet-Wassermann.

2. *Contrôle des résultats obtenus à la séance de triage.*

Le sérum sanguin des candidats donneurs est examiné le lendemain de la séance de triage.

On prèlève à l'aide d'une baguette de verre ou d'une pipette effilée, deux gouttes du sérum exsudé dans le tube contenant le sang pour le B.W. (Ces tubes ont été mis à la glacière pendant 12 à 24 heures). Les gouttes de sérum sont déposées sur une lame de verre (qu'on a eue soin de chauffer un peu au préalable), mélangées, la première, à une trace de sang A β, la deuxième, à une trace de sang B α, obtenues extemporanément par piqûre du doigt d'un individu du groupe A β et d'un individu du groupe B α. Balancement de la lame et lecture des résultats d'agglutination.

Soit x le sérum à contrôler.

Soit A le sang (globules) du sujet A β.

Soit B le sang (globules) du sujet Bα.

1. Si x + A = +
   Si x + B = +

x = sérum $\alpha\beta$ du groupe O $\alpha\beta$, puisque A et B rencontrent α et β qui les agglutinent.

C'est l'équation qui doit être vérifiée expérimentalement chaque fois qu'on ne recrute que les donneurs universels à la séance de triage.

2. Si x + A = +
   Si x + B = O

x = sérum α du groupe B α, puisque seul A rencontre α.

3. Si x + A = O
   Si x + B = +

x = sérum β du groupe A β, puisque c'est B qui s'unit à β.

4. Si x + A = O
   Si x + B = O

x = sérum o du groupe A B o, puisque ni A, ni B ne sont touchés par α ou par β.

Dans cette recherche des donneurs universels (groupe O α β), on se fonde par conséquent :

1. Sur trois agglutinations négatives à la séance de triage ; les globules rouges des donneurs universels n'étant agglutinés par aucun sérum des quatre groupes sanguins ;

2. Sur deux agglutinations positives à la séance de contrôle. Le sérum des donneurs universels agglutine les globules rouges des trois groupes sanguins B α, A β et A B o.

Il est évident que pour avoir de bonnes réactions aux séances de triage et de contrôle, il est nécessaire de travailler avec des sérums tests actifs et avec des globules-étalons sûrs, dont la sensibilité aux agglutinines a été reconnue. De plus, il faut connaître les causes d'erreur dans la détermination des groupes sanguins et chercher à les écarter.

Notre étude de la technique sérologique prétransfusionnelle portera donc :

1. sur les épreuves de compatibilité et de détermination des groupes de sang ;
2. sur les sangs tests : sérums et globules ;
3. sur les causes d'erreur.

Chapitre III

LES ÉPREUVES COURANTES

Elles sont toutes basées, à l'heure actuelle du moins, sur la réaction d'iso-hémo-agglutination.

Les réactions d'agglutination sont macroscopiques dans la plupart des épreuves; d'ailleurs le contrôle microscopique est possible dans tous les cas.

Le matériel nécessaire pour les épreuves est en général assez réduit : lames de verre, cartons de bristol, verres de montre, tubes à séro-réactions. Enfin, certains auteurs conseillent de faire les réactions dans des tubes de verre à très petit diamètre (4 à 8 m/m) ou même dans des tubes capillaires.

Le microscope est indispensable si on utilise la méthode de la goutte pendante ou celle de la goutte de sang sèche (Lattes).

N'oublions pas la centrifugeuse employée couramment pour les réactions d'agglutination par M. Schiff, par MM. Benda et Coro del Pozo, tandis que MM. Moss, Hektoen, Ottenberg, Hirszfeld, en France MM. P.-E. Weil et M. Lamy, Agasse-Lafont la remplacent par l'étuve à 25° C.

Les épreuves directes ou de compatibilité sanguine.

Ne comportant pas d'identification de groupes, il est clair qu'elles n'entrent pas en ligne de compte pour le technicien chargé du contrôle sérologique d'un Centre de Transfusion sanguine d'urgence. Pour avoir des donneurs à la disposition immédiate des cliniciens, il faut avant tout connaître leur groupe sanguin.

Néanmoins, ces épreuves directes doivent être utilisées comme épreuves de contrôle par le praticien transfuseur avant toute transfusion, même si le groupe du receveur et celui du donneur sont connus (17).

1. *L'épreuve des 3 gouttes, dite de* NURNBERGER.

C'est la seule épreuve directe réalisable extemporanément, mais elle est très infidèle et doit être rejetée.

Technique : elle consiste à mélanger sur une lame de verre I goutte du sang du donneur, I goutte du sang du receveur et I goutte de citrate de soude pour éviter la coagulation sanguine.

Résultats : Suivant qu'il y a agglutination ou non, on conclut à l'incompatibilité ou à la compatibilité des sangs du donneur et du receveur.

Or : « L'agglutination renseigne autant sur l'incompatibilité du sérum du donneur vis-à-vis des globules du receveur que du sérum du receveur vis-à-vis des globules du donneur. »

Théoriquement, cette épreuve considérée par certains transfuseurs comme test de sécurité maxima (elle serait l'image in vitro de ce qui se passe in vivo), risquerait de priver le clinicien des donneurs universels. (Exemple : receveur A B o, donneur O $\alpha\,\beta$. Il devrait se produire une agglutination des globules A B par le sérum $\alpha\,\beta$). Il devrait y avoir défaut d'agglutination seulement dans le cas d'égalité des groupes des deux sangs mis

en contact. Dans tous les autres cas l'agglutination serait de règle.

Pratiquement l'agglutination est très rarement observée et toujours très peu apparente. Le plus souvent, cette technique aboutit à des résultats illisibles, ce qui interdit l'usage de cette méthode (18).

2. *L'épreuve directe dite de* JEANBRAU, étudie l'action du sérum du receveur vis-à-vis des globules du donneur.

Technique : On met en contact, sur une lame de verre, I goutte de sérum du receveur (obtenu soit par exsudation, soit par centrifugation d'une petite quantité de sang prise à la veine) avec I petite goutte de sang obtenu par piqûre du doigt du donneur.

La même réaction peut être faite dans un tube à séro-réactions, ce qui permet de centrifuger le mélange sérum-sang (qui doit toujours présenter les mêmes proportions : 1/2 cc. de sérum pur pour I goutte de suspension globulaire diluée à 1/4).

Résultats : Si une vraie agglutination a lieu au bout de quelques minutes (après balancement de la lame, ou centrifugation du tube à séro-réactions) le donneur n'est pas à employer; son sang est incompatible avec le sang du receveur.

Si l'agglutination ne se produit pas, les sangs sont compatibles et l'on peut procéder à la transfusion.

L'épreuve positive est donc éliminatoire.

Ces dernières années, c'est surtout l'épreuve de JEANBRAU croisée que l'on utilise.

Technique : On met en présence, soit sur lames, soit dans des tubes à séro-réactions.

1. le sérum du receveur et les globules du donneur;

2. le sérum du donneur et les globules du receveur.

Résultats : Il y a incompatibilité : a) s'il y a agglutination des deux mélanges; b) s'il y a agglutination du mélange : sérum du receveur + globules du donneur.

Il y a compatibilité et la transfusion est permise dans certains cas, s'il n'y a pas d'agglutination du mélange : sérum du receveur + globules du donneur, et que le mélange : sérum du donneur + globules du receveur agglutine; les sangs sont alors compatibles, mais de groupes différents.

Il y a égalité de groupe des sangs du donneur et du receveur si les deux mélanges ne sont pas agglutinés : la transfusion est toujours permise dans ce cas.

La méthode présente de sérieux avantages, elle est simple, elle n'emploie pas de réactifs (sérums-tests) qui peuvent n'être pas sûrs.

Elle doit toujours être effectuée et refaite :

1. si on réemploie chez le même receveur, un donneur déjà utilisé. Dans ce cas, il est possible que se soient formés, par des transfusions antérieures, des anticorps immunitaires contre les gènes individuels et de groupe du donneur (1).

2. si on procède à une transfusion médicale : dans ce cas, seul par l'épreuve directe croisée, on pourra dépister la présence d'hémolysines et d'agglutinines anormales dans le sang du receveur (et dans celui du donneur) [18].

Les inconvénients de la méthode résident dans le défaut de tout contrôle : si l'un ou l'autre des deux sangs présente soit des agglutinines très faibles, soit des globules très résistants, la réaction d'iso-agglutination est très peu apparente et peut passer inaperçue (19).

3. *L'épreuve biologique, dite d'*Œhrlecker.

Technique : Deux à cinq minutes avant la transfusion, on injecte préalablement dans une veine du rece-

veur 5 à 20 cc. de sang du candidat-donneur, puis le malade-receveur est surveillé. Des signes tels que dyspnée, cyanose, mydriase, nausées, vomissements, douleurs lombaires sont la preuve d'une incompatibilité des deux sangs mis en présence et réclament le renvoi du donneur, inutilisable dans ce cas (20).

Donc, « lorsqu'il s'agit d'une urgence telle que l'on se trouve dans l'impossibilité de faire le groupement, on peut pratiquer quand même la transfusion en injectant le sang très lentement et en surveillant le malade-receveur » (21).

Il est cependant dangereux de se fier uniquement à l'épreuve biologique, sans faire, au préalable, d'autres épreuves de compatibilité :

1. Parce que, quoi qu'en dise M. Bécart, 10 à 20 cc. de sang incompatible peuvent amener des accidents immédiats quelquefois mortels. Unger a cité un exemple de ce genre (20).

2. Parce qu'on peut avoir l'accident post-transfusionnel retardé, ne survenant que quelques heures ou même un jour après la transfusion.

M. Benda cite des observations de malades (hépatiques éthyliques) chez lesquels le choc (mortel) se produit tard, les signes avertisseurs classiques manquant pour la plupart du temps et même dans les cas de choc mortel (22).

Dans ces cas l'épreuve biologique est vraiment d'une valeur toute relative (23). Cependant le début d'une transfusion doit toujours servir d'épreuve biologique, même si les épreuves in vitro ont été pratiquées au préalable (24).

Les épreuves indirectes.

Les épreuves indirectes sont toutes basées sur l'emploi soit des sérums-tests, soit des globules-étalons; elles donnent une détermination du groupe sanguin.

Beaucoup d'auteurs n'aiment pas s'en servir, sous prétexte que « la théorie des agglutinines et des agglutinogènes, de même que l'hypothèse des quatre groupes sanguins, sont incapables de fournir une explication satisfaisante de tous les faits. L'insuffisance de cette théorie et de l'hypothèse qui en dépend est reconnue, du reste par la plupart des biologistes. On sait, depuis longtemps, que certains sangs ne sont pas groupables » (25).

Les épreuves indirectes présentent cependant de sérieux avantages :

1. Elles nous donnent la possibilité de travailler avec des réactifs très actifs; de ce fait, les réactions faites avec les globules rouges peu sensibles sont encore apparentes.

2. L'examen du sérum par des globules-étalons, indispensable pour une détermination complète du groupe, constitue un excellent contrôle des résultats trouvés lors de l'examen des globules rouges.

3. De plus, argument de la plus haute importance pour la pratique : seule l'identification des groupes permet d'organiser un Centre de Transfusion sanguine d'urgence avec donneurs sélectionnés d'avance. (1).

1. *L'épreuve de* Beth-Vincent.

C'est certainement l'épreuve la plus connue et la plus utilisée de nos jours.

Technique : Nous en avons fait la description quand nous avons parlé des séances de triage des candidats-donneurs au Centre de Transfusion sanguine d'urgence de

Strasbourg. On éprouve les globules à étudier avec des sérums-tests du groupe A β, B α et O α β.

En Amérique et dans les pays allemands l'épreuve est connue soit sous le nom de typing, soit sous le nom d'épreuve de Moss-Lee-Vincent.

D'ailleurs, suivant les auteurs, la technique présente des variantes.

Ainsi Moss (1910) se serait servi de solutions diluées des globules rouges à étudier (1 goutte de sang pour 8 à 10 cc. d'eau physiologique) examinés en goutte pendante (voir : Méthodes microscopiques).

Lee et Vincent ont pris le sang pur, non dilué, sur lame de verre plane.

Schiff, de même, travaille avec une suspension globulaire sur lame de verre plane (1).

Au contrôle sérologique du Centre de Transfusion sanguine d'urgence de Paris, on se sert soit d'hématies provenant d'effritement de caillots, soit d'hématies en suspension physiologique, datant de 24 heures (23).

Au Centre de Strasbourg, on utilise le sang frais, pur, provenant d'une piqûre au doigt.

D'après Schiff et Paris, la réaction faite avec une dilution globulaire des hématies à étudier, serait plus sensible que celle faite avec le sang frais.

Il nous semble qu'en n'utilisant qu'une trace de sang frais et pur, représentant 1/10 environ de globules rouges par rapport à la goutte de sérum, on arrive à avoir des proportions séro-globulaires correctes, sans dilution préalable des globules rouges.

L'épreuve de Beth-Vincent est une bonne méthode, sensible, rapide, commode, demandant peu de matériel et de sérum-test.

Cependant beaucoup d'auteurs ne l'admettent pas : ils prétendent qu'elle expose à des erreurs redoutables si on ne prend pas les précautions que M. Coro del Pozo

énumère dans sa thèse (26) et qui sont fort nombreuses. Nous n'avons jamais trouvé nécessaire de prendre les précautions n° 4, 6 et 7 pour les cas courants, à savoir :

— Vérification du groupe avec des hématies vieillies, datant de 24 heures.

— Contrôle microscopique.

— Addition de différentes substances telles que kaolin, lécithine, etc... en cas de lecture difficile.

La température de 15 à 20° est habituellement celle qui doit régner au Laboratoire et dans les salles d'Hôpital. Les n^{os} 1 et 3 sont des détails de technique très importants, mais faciles à retenir et à exécuter (n° 1 : proportion séro-globulaire. Ne pas prendre une quantité de sang trop considérable par rapport à la quantité des sérums; n° 3 : agiter le carton ou la lame pendant une à deux minutes).

Restent les recommandations n° 8, 9 et le n° 2.

Nous les considérons comme essentielles et nous y ajoutons même une dernière :

1. *Contrôle par le sérum* $\alpha\,\beta$: c'est une méthode que M. Tzanck a préconisée un des premiers : elle est très bonne, il faut toujours la faire; par l'utilisation du sérum $\alpha\,\beta$ comme sérum-test, la détermination de groupe devient plus sûre. Si le sérum $\alpha\,\beta$ agglutine les globules à étudier, le sérum β ou le sérum α ou les deux sérums-tests doivent nécessairement les agglutiner aussi. Si le sérum $\alpha\,\beta$ n'agglutine pas les globules à examiner, aucun des autres sérums β ou α ne doit les agglutiner.

2. *Contrôle mutuel. L'épreuve de Beth-Vincent* est refaite immédiatement par un autre opérateur et avec des sérums-tests de souche différente.

Si les deux résultats sont différents l'un de l'autre, le cas doit être repris et réétudié à l'aide de méthodes

plus précises, mais plus compliquées (méthode de la centrifugation, utilisation de suspensions globulaires, etc...).

3. *Sérums-tests très actifs.* C'est en effet une condition essentielle pour que les résultats soient corrects. L'activité d'un sérum doit être déterminée par le titrage de ce sérum. Il faut de plus contrôler, avant leur emploi, la spécificité des sérums. M. Benda est très méfiant en ce qui concerne les sérums-tests : « Ce seraient des sérums en quelque sorte étrangers aux deux sujets dont il s'agit de mélanger les sangs » (25).

Il nous semble que dans certains cas, il vaut mieux étudier le groupe sanguin d'un donneur en éprouvant ses globules par un sérum spécifique et actif, c'est-à-dire un sérum normal, qu'en les mettant en présence du sérum du malade receveur, quelquefois faible et anormal.

Ainsi notre maître, le Professeur Simonin, a signalé un cas pareil : accident de transfusion par suite d'une épreuve de Jeanbrau négative et une fausse détermination du groupe sanguin du donneur (19).

Nous verrons plus tard quelle technique il faut employer pour avoir des sérums-tests spécifiques et actifs.

4. *Contre-épreuve de l'épreuve de Beth-Vincent :* c'est le contrôle du sérum du donneur avec des globules-étalons reconnus spécifiques et sensibles.

Par l'épreuve de Beth-Vincent, on fait le diagnostic du groupe sanguin du candidat en se basant sur la présence ou l'absence d'agglutinogène dans les globules à examiner. Pour vérifier si le diagnostic est exact, il convient d'étudier l'autre facteur de constitution des groupes sanguins : les agglutinines du sérum.

C'est ce que l'on fait au Centre de Transfusion de Strasbourg, à la séance de contrôle, le lendemain de la séance de triage des candidats-donneurs.

Nous en avons décrit la technique plus haut. Il est entendu qu'il faut observer quelques précautions de règle pour la technique de Beth-Vincent.

a) Le mélange séro-globulaire est à effectuer dans les mêmes proportions énoncées plus haut : 1/10 environ de sang pur (globules-étalons) par rapport à la goutte de sérum à étudier.

b) Balancement de la lame entre les doigts de l'opérateur jusqu'au moment de la lecture.

c) Léger échauffement de la lame pour éviter le phénomène de la pan-agglutination (les sérums pan-agglutinants sont actifs sur tous les globules de n'importe quel groupe). La pan-agglutination est moins à craindre si les sérums à étudier ont été conservés à basse température (comme c'est le cas pour les tubes à B.W. qui sont maintenus à la glacière [+ 2°] pendant douze heures environ), ce qui provoque l'absorption des pan-agglutinines.

d) Utilisation de globules-étalons A et B spécifiques et sensibles. Au Centre de Strasbourg, on les utilise après les avoir obtenus extemporanément par piqûre du doigt des individus A et B.

e) Il faut refaire le contrôle en employant une méthode plus sensible (méthode de Schiff), si les résultats sont discordants, c'est-à-dire si le sérum n'agglutine pas les deux gouttelettes de sang A et B.

f) Reste le pouvoir empilant des sérums frais qui existe indiscutablement et qui est particulièrement néfaste dans ce cas, parce qu'il peut simuler des agglutinations et faire prendre un individu des goupes A B, A et B, pour un donneur universel du groupe O $\alpha\beta$.

Nous n'avons observé la pseudo-agglutination que très rarement à l'occasion de la séance de contrôle des sérums frais. A notre avis, elle se produit seulement si la goutte de sang-étalon A ou B est trop grosse.

D'ailleurs la pseudo-agglutination est facile à distinguer de la vraie agglutination : dans ce dernier cas, la goutte de sérum est comme recouverte d'un réseau à larges mailles irrégulières, dont les nœuds sont formés par les agglutinats.

S'il y a pseudo-agglutination, les agglomérats globulaires sont plus denses, plus réguliers et ne donnent pas l'impression de nœuds d'un filet.

AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS DE LA MÉTHODE D'AGGLUTINATION SUR LAME

Avantages.

Pour s'orienter rapidement au sujet du groupe d'un sang quelconque et dans le cas d'identifications de groupes en séries, les épreuves d'agglutination faites sur lame présentent de grands avantages : rapidité, simplicité, matériel réduit, etc...

Inconvénients de la méthode d'agglutination sur lame.

a) Fréquemment, on emploie une goutte de sang trop grosse par rapport à la goutte de sérum. L'agglutinine du sérum est alors impuissante à former en un temps assez court des agglutinats de globules rouges trop nombreux, surtout si ces derniers sont difficilement agglutinables.

b) L'emploi des sangs concentrés (au lieu d'une dilution globulaire) donne facilement lieu à une pseudo-agglutination, réaction souvent difficile à distinguer d'une agglutination vraie.

c) L'évaporation et le dessèchement des gouttes sur lame de verre se produit après 15 minutes environ. D'où impossibilité de prolonger le temps d'observation.

MÉTHODES DE RÉACTION D'ISO-AGGLUTINATION EN TUBES

Les réactions d'iso-agglutination en tubes sont beaucoup pratiquées depuis ces dernières années. En les employant, on évite de multiples causes d'erreur susceptibles de fausser les résultats obtenus par les méthodes sur lame.

Ce sont en plus des méthodes quantitatives. Elles nécessitent un matériel plus complet que les épreuves faites sur lame, à savoir : les tubes à séro-réaction (d'hémolyse ou d'agglutination), des pipettes et des compte-gouttes, etc..., etc....

Tout comme dans les épreuves sur lame, c'est au mélange séro-globulaire qu'il faut apporter tous les soins. Le succès de la méthode dépend des proportions séro-globulaires employées. D'où les nombreuses variantes de ce mélange. M. Agasse-Lafont utilise un mélange séro-globulaire intéressant : il prépare une émulsion globulaire à 1 % : 1 cc. de sang est mélangé à 9 cc. d'une solution chlorurée citratée de formule :

Solution de chlorure de sodium à 9 pour 100....	66 cc.
Citrate de soude	1 gr.
Eau distillée	Q.S. pour 100

L'auteur mélange une partie de cette émulsion à trois parties de sérum pur (27).

M. Schiff utilise un mélange de 0,2 cc. de suspension globulaire diluée à 5 %, et de 0,1 cc. de sérum pur.

A Strasbourg, nous employons soit des suspensions globulaires simples, diluées à 1 4 par le sérum physiologique, soit les suspensions globulaires citratées (voir préparation des suspensions globulaires) diluées à 1 4. I goutte de suspension globulaire est mélangée à 1 2 cc. de sérum pur ou dilué.

M. Moureau, de Liège, pour identifier le groupe sanguin des candidats donneurs, emploie 1 goutte de suspensions de globules frais à 2,5 % à 5 %, pour 1 goutte de sérums-tests titrés, dilués à 1/2 à 1/4 (28).

Le mélange séro-globulaire une fois constitué, doit être mis au repos pendant trente à quarante minutes, les tubes ayant été secoués légèrement au préablable; puis on fait la lecture des résultats.

La plupart des sérologues procèdent, après 15 minutes de contact du mélange, à la centrifugation des tubes. La réaction d'agglutination est renforcée et accélérée de quelques heures par la centrifugation, même légère (1.500 tours à la minute pendant 30 secondes).

D'autres auteurs préfèrent mettre les mélanges, après quelques minutes de contact, à l'étuve à 25° C., pendant 30 à 40 minutes.

MÉTHODES DE LA CENTRIFUGATION

Méthode de Schiff.

La méthode de Schiff est certainement la plus connue à l'heure actuelle. Les autres n'en sont que des variantes.

La méthode de Schiff se compose d'une triple épreuve. On procède :

a) A la détermination des groupes sanguins du donneur et du receveur à l'aide de sérums-tests A β et B α.

Sérum-test β + suspension globulaire du sang du donneur
Sérum-test α + suspension globulaire du sang du donneur. 2 tubes.

Sérum-test β + suspension globulaire du sang du receveur
Sérum-test α + suspension globulaire du sang du receveur. 2 tubes.

b) A la détermination des groupes sanguins du donneur et du receveur à l'aide de globules-étalons A et B.

Sérum du donneur + suspension globulaire A
Sérum du donneur + suspension globulaire B 2 tubes

C'est cette méthode que nous employons au Centre de Transfusion sanguine d'urgence de Strasbourg, à la séance de contrôle du sérum des donneurs universels, quand les réactions sur lame sont douteuses ou négatives.

Sérum du receveur + suspension globulaire A
Sérum du receveur + suspension globulaire B 2 tubes

C'est l'épreuve indirecte inverse de l'épreuve de Beth-Vincent faite en tubes.

c) A l'épreuve directe.

Sérum du donneur + suspension globulaire du sang du receveur 1 tube.

C'est l'épreuve de Jeanbrau en tube.

Technique : la préparation des solutions globulaires consiste à mélanger I goutte de sang pur et frais à 1 cc. d'eau physiologique.

Dans un tube à séro-réaction, on verse 0,1 cc. de sérum pur + 0,2 cc. de suspension globulaire. La dilution globulaire finale est de 3,3 % environ. Les tubes sont secoués légèrement pour avoir un mélange homogène.

Après 10 minutes de contact, on place les 9 tubes dans une centrifugeuse : centrifugation pendant 2 à 5 minutes à 1.500 tours à la minute. (A notre avis, le temps de centrifugation est trop long). A la lecture des résultats, les tubes à agglutination positive présentent, après quelques secousses légères, soit un gros flocon, soit des grumeaux plus ou moins fins, rouge-foncé, nageant dans le sérum limpide.

Les réactions négatives se présentent, après quelques légères secousses du tube, sous forme de mélange séro-globulaire homogène, d'une teinte uniformément rosée.

L'épreuve est complète; les deux sangs sont étudiés à fond. Mais la méthode ne peut être utilisée pour le contrôle hématologique d'un Centre de Transfusion sanguine d'urgence, parce qu'il faut connaître le receveur (1).

Méthode de Coro del Pozo.

MM. Benda et Coro del Pozo emploient également la méthode de la centrifugation sous forme d'épreuve directe (sérum receveur + globules donneur). Ils procèdent :

1. à une dilution globulaire à 1/40 (XL gouttes de sérum physiologique à 8 ‰ + I goutte de sang pur et frais).

2. à une dilution sérique à 1/2 (X gouttes de sérum physiologique à 8 ‰ + V gouttes de sérum pur) [26. 50].

A notre avis, c'est aggraver l'inconvénient de l'épreuve directe que de diluer le sérum sans connaître d'abord le taux d'activité des agglutinines. En effet, si les agglutinines sont très peu actives, ce qui est fréquemment le cas pour les sérums de sujets malades, cachectiques, on risque, en les diluant encore, de supprimer une agglutination déjà peu évidente avec le sérum pur.

MÉTHODE DES TUBES CAPILLAIRES

La méthode des tubes capillaires est une méthode macroscopique, nécessitant très peu de réactifs (sérum, sang).

Technique : On se sert de tubes capillaires de 10 cm. de long sur un demi à un millimètre de large. Le sérum et la suspension globulaire sont aspirés par une extrémité du tube.

En déplaçant la colonne de liquide, on obtient le mélange du sérum et des globules. La lecture est faite après 30 secondes à 30 minutes.

Avantages : On peut employer la méthode dans tous les cas :

1. Elle est bonne si on veut avoir une réaction macroscopique et qu'on a très peu de sérum ou de globules à sa disposition (p. ex. : 1/10 de milligramme de sang).

2. Comme l'évaporation du sérum est impossible, la méthode assure une bonne conservation de la réaction pendant des jours.

3. C'est une méthode quantitative (titrages des sérums) très sensible, rapide et simple. La lecture est facile (Ponsold 29).

Inconvénients : Le matériel et la technique sont un peu spéciales. A notre avis, la méthode des tubes capillaires convient plutôt pour les épreuves médico-légales.

MÉTHODES MICROSCOPIQUES

Les méthodes microscopiques ne sont pas employées couramment. Elles exigent un matériel spécial, et une certaine habitude de la technique, pour réussir. En plus les résultats sont un peu difficiles à lire.

Nous n'avons jamais vu les pratiquer.

1. *Epreuve de la goutte pendante de Lattès.*

Elle peut être employée comme épreuve directe et pour la détermination de groupe.

Technique : On dépose sur le couvre-objet épais (0,5 à 0,8 m/m) légèrement excavé au milieu, 2 anses de suspension globulaire à 1 à 2 %, et une anse de sérum. Les gouttelettes sont posées séparément et ne sont mélangées qu'ensuite. Après quoi, on pose le couvre-objet sur le porte-objet.

Lecture au microscope : (faible grossissement). La préparation est à l'abri de l'évaporation. Il ne faut jamais tenir compte de ce qu'on observe à la périphérie extrême de la goutte (2).

2. *Epreuves de la goutte sanguine sèche de Lattès.*

C'est généralement une épreuve directe : le sérum de la goutte sèche provenant du receveur, est éprouvé par une émulsion globulaire du sang du candidat-donneur.

On peut utiliser cette méthode si le sérum du receveur ne décante pas assez rapidement ou s'il y a indication à soustraire au receveur un minimum de sang en vue de l'épreuve de compatibilité (nourrissons, anémies très graves).

Technique : On dépose une gouttelette de sang sur une lame porte-objet et on en fait l'étalement de manière à obtenir une surface sanguine de quelques millimètres de diamètre : le sang ainsi étalé doit sécher immédiatement.

Sur la même lame, à quelque distance de la gouttelette séchée, on dépose une gouttelette d'une émulsion globulaire (1 à 2 gouttes de sang pour 1 cc. d'eau physiologique).

On recouvre les deux gouttes d'une lamelle, ce qui fait s'étaler la gouttelette liquide : elle s'avance vers le bord de la gouttelette sèche et empiète légèrement sur lui.

Il faut éviter que les gouttelettes soient séparées par des bulles d'air.

Immédiatement ou au bout de quelques minutes, il y a formation d'agglutinats typiques dans la zone de rencontre des deux gouttelettes. Dans ce cas la réaction est positive.

Si la réaction est négative, les globules rouges de l'émulsion restent répartis régulièrement sur toute l'étendue. Il suffit de soulever et d'abaisser la lamelle sur le porte-objet pour être fixé sur la nature des agglutinats. Si les amas persistent après cette manœuvre, il s'agit d'une vraie agglutination (2-1).

Nous ne croyons pas que ces méthodes puissent entrer en ligne de compte pour le contrôle hématologique d'un Centre de Transfusion sanguine d'urgence.

ÉPREUVES DE COMPATIBILITÉ NON BASÉES SUR L'ISO-AGGLUTINATION

Thomsen propose de choisir l'hémolyse comme preuve d'incompatibilité de deux sangs. D'après lui et quelques auteurs allemands, l'agglutination n'est pas un préstade de l'hémolyse, en ce sens qu'elle ne renforce pas les tendances hémolytiques préexistantes dans un sérum; l'agglutination in vivo, non suivie d'hémolyse, ne provoquerait aucun accident; les échanges gazeux respiratoires continueraient avec la même rapidité, même si les globules rouges sont agglutinés (30).

Les accidents de transfusion seraient dûs à l'hémolyse des globules rouges du donneur par le sérum du receveur. Chez le nourrisson où il y a physiologiquement faiblesse ou absence des agglutinines, on peut très souvent mettre en valeur une hémolysine sérique très active.

Technique de l'épreuve directe de compatibilité basée sur l'hémolyse :

2 cc. de sang du receveur sont obtenus comme d'habitude par ponction veineuse; on les laisse se coaguler pendant 10 à 15 minutes. On agite le tube pour dissocier un peu le caillot; après centrifugation, on enlève le sérum avec une pipette stérile (le sérum ou le plasma citratés ne sont pas à employer). Dans un premier tube à séroréaction, on met VI gouttes du sérum du receveur et II gouttes de suspension globulaire, obtenues à partir du sang du donneur (II gouttes de sang exprimées du doigt piqué et mélangées à X gouttes d'eau physiologique). Le sérum et les globules doivent être rigoureusement frais. Ce tube est mis au bain-marie de 30° à 38° C. pendant 15 à 30 minutes.

Le deuxième tube contient un mélange de II gouttes de sérum du receveur, de VI gouttes d'eau physiologique et de I goutte de suspension globulaire. Mise en contact pendant 10 à 15 minutes.

a) Premier tube : si hémolyse positive des globules du donneur par le sérum du receveur : le donneur ne convient dans aucun cas.

b) Premier tube : si hémolyse négative des globules du donneur par le sérum du receveur.

Deuxième tube : si agglutination négative des globules du donneur par le sérum du receveur, le donneur convient parfaitement.

c) Premier tube : hémolyse négative.

Deuxième tube : agglutination positive, le donneur peut être utilisé s'il y a urgence (31).

Chapitre IV

LES SÉRUMS-TESTS

Sélection :

C'est pendant la séance de triage des candidats-donneurs que sont effectuées plusieurs prises de sang chez des individus identifiés groupe A, B et O, en vue du renouvellement des provisions de sérums-tests.

Les candidats-donneurs sont des personnes adultes, en bonne santé; on peut admettre que les agglutinines sont présentes dans le sérum et restent stables in vivo pendant un certain temps. Ces sujets peuvent donc convenir comme donneurs de sérum-test, à la condition que l'activité des agglutinines soit suffisante.

Enfants et vieillards sont exclus de prime-abord; leurs agglutinines sériques sont en général très faibles et quelquefois même absentes. Les malades ne conviennent pas comme donneurs de sérum. Le sérum obtenu à partir du sang d'un sujet malade est susceptible de posséder un pouvoir empilant augmenté (pseudo-agglutination).

De plus, nous avons, de temps en temps, recours à des individus de groupe sanguin connu, remplissant toutes les conditions pour être de bons donneurs de sérums-

tests très actifs et spécifiques. Ces derniers peuvent être prélevés, préparés et utilisés sans épreuve de groupe préalable. Cependant ils ont besoin d'être contrôlés de temps en temps, étant donné que l'activité sérique peut varier in vivo (à la suite de changements de régime, etc...).

Il est intéressant de noter que les sérologues russes de Léninegrad, MM. Blinov et Zazkin, font leurs provisions de sérums-tests à partir du sang rétroplacentaire des accouchées de la clinique obstétricale de Léninegrad. Bien que le sang ne soit plus stérile à la sortie des voies génitales féminines, ces sérums-tests seraient spécifiques, actifs et faciles à conserver (32).

Préparation des sérums-tests α, β et α β :

Technique : Une prise de sang (50 à 80 cc.) stérile est pratiquée au pli du coude d'un sujet de type sérologique connu (de préférence quand le sujet est à jeun ou en dehors de la période digestive; autrement le sérum sera trouble).

Le sang recueilli en tubes stériles, est mis au repos complet à la glacière pendant 24 à 48 heures (de façon à faire absorber les agglutinines à froid existant dans le sérum).

Puis le sérum exsudé par coagulation du caillot est prélevé stérilement au moyen d'une pipette et mis en ampoules de verre de 2 cc. de contenance, préalablement passées au Poupinel.

Les ampoules sont colorées différemment. Le sérum β est placé en ampoules bleues, le sérum α est mis en ampoules incolores, le sérum α β est conservé en ampoules brunes.

M. Blinov va jusqu'à colorer les différents sérums-tests. 100 cc. de sérum β sont colorés en rose, par II à III gouttes d'éosine; 100 cc. de sérum α deviennent bleus

ou verts par l'addition de VI à VII gouttes de bleu de méthylène à 1 % ou de thionine.

L'addition de liquides colorants ne provoquerait pas de diminution du taux d'activité agglutinante des sérums (44).

Certains auteurs se servent de sérums-tests inactivés : les sérums, avant d'être mis en ampoules, sont maintenus à 56° pendant une demi-heure; ils sont alors privés de tout pouvoir empilant (Schiff, 1), [Moureau, 28].

Selon Lattès et Paris, l'inactivation sérique ne serait pas nécessaire : le pouvoir d'empilement du sérum disparaît par le temps si le sérum est maintenu quelques jours à la température du Laboratoire (15 à 20°), [Lattès, 2], (Paris, 23).

Le sérum une fois préparé, peut être utilisé 8 jours après la prise de sang.

Titrage des sérums-tests :

En procédant au titrage des sérums-tests, on contrôle leur activité agglutinante. De plus, tout en déterminant le taux des agglutinines, on contrôle aussi leur spécificité.

Technique : Nous utilisons la méthode des dilutions progressives à la puissance 2. Nous préparons pour chaque sérum à titrer 6 tubes à séro-réaction, bien propres et secs. Dans chaque tube, nous mettons préalablement 1/2 cc. d'eau physiologique. Puis, à l'aide d'une pipette propre, nous ajoutons au premier tube 1/2 cc. du sérum à titrer.

De ce mélange à la dilution 1/2, nous prélevons 1/2 cc. pour le verser dans le deuxième tube qui contient ainsi une dilution sérique de 1/4.

Nouveau prélèvement de 1/2 cc. de ce mélange, versé dans le 3e tube, contenant alors une dilution sérique à 1/8.

Et ainsi de suite : 4e tube : dilution à 1/16; 5e tube : dilution à 1/32; 6e tube : dilution à 1/64; etc...

Chaque tube est ensuite additionné de 1 goutte de suspension globulaire étalon à 1/4, préparée d'avance, de façon à réaliser des mélanges séro-globulaires agglutinants, c'est-à-dire :

1. Les sérums à titrer β sont mis en contact avec les globules-étalons B.

2. Les sérums à titrer α sont additionnés de globules-étalons A.

3. Pour les sérums α β nous faisons deux rangées de dilutions de 1/2 à 1/64 : la première est additionnée de globules A; la deuxième de globules B.

Après légère agitation des mélanges, nous laissons les tubes au repos pendant 15 minutes, puis nous procédons à leur centrifugation pendant 30 à 40 secondes à raison de 1.500 tours par minute.

Nous sortons les tubes de la centrifugeuse, en ayant soin de ne pas trop agiter les mélanges. Puis nous faisons la lecture des résultats.

Les 6 solutions séro-globulaires ont toutes le même aspect : sérum limpide surnageant au-dessus d'un culot de globules rouges au fond du tube. Pour faire remonter les globules, ou les agglutinats, il est nécessaire d'imprimer à chaque tube quelques légères secousses.

Si le mélange redevient homogène, rosé, il n'y a pas d'agglutination.

Il y a agglutination quand :

1. Le culot remonte en bloc et nage dans le sérum sous forme d'un ou de plusieurs gros flocons.

2. Le culot se fragmente en grumeaux de différentes grosseurs.

3. Le mélange séro-globulaire semble être homogène, il y a cependant de très fins petits points rouge-sombre qui sont quelquefois visibles seulement à la loupe.

Pour connaître le titre de l'activité agglutinante du sérum, nous recherchons le mélange séro-globulaire à la plus forte dilution sérique, présentant encore des agglutinats visibles à l'œil nu ou à la loupe : le taux de la dilution du sérum représente alors la limite d'agglutinabilité du sérum.

Quand les globules-étalons sont visiblement agglutinés par le sérum dilué à 1/64, nous faisons une deuxième rangée de dilutions allant de 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048 à 1/4096. (Pour cela il faut avoir soin de conserver les 1/2 cc. prélevés sur la dilution sérique à 1/64). Cette deuxième rangée est additionnée de globules rouges, puis centrifugée tout comme la première rangée.

Sélection des sérums-tests actifs :

Le titrage sérique permet de sélectionner des sérums-tests actifs. Au centre de transfusion sanguine d'urgence de Strasbourg, nous éliminons après le titrage tous les sérums β et α au taux d'agglutinine inférieur à 1/16.

A notre avis, ce taux est bien choisi et assez élevé en ce qui concerne les sérums-tests β; il faudrait en choisir un plus élevé pour les sérums-tests α, qui doivent être particulièrement actifs pour agglutiner les globules A 2 et A 2 B résistants.

Ainsi M. Moureau élimine les sérums α dont le taux agglutinant (macroscopiquement) est inférieur à 1 64-1/128, tandis que pour les sérums β, il choisit un taux agglutinant limite moins élevé : 1/16-1/32 (28).

M. Blinov estime que les sérums-tests soit α, soit β, titrant 1/32, sont suffisants pour la pratique courante (32).

Cependant α doit être choisi très actif.

Titrage et retitrage des sérums-tests

Noms et groupes	8.10.35	30.11.35	19.2.36	4.7.36	24.11.36
Sér. β Damm	1/16	—	1/16 (R)	1/4 (R) éliminé	—
Sér. β Bohn	1/32	—	—	—	—
Sér. β Vix	1/2 éliminé	—	—	—	—
Sér. β Rack	—	1/16	1/4 à 1/8 (R)	éliminé	—
Sér. β Matz	—	1/8 à 1/16	1/16 (R)	—	—
Sér. β Neyer	—	1/16	1/32 (R)	—	—
Sér. β Kof	—	—	1/16 à 1/32	1/16 (R)	—
Sér. β Zel	—	—	—	—	1/64 - 1/128
Sér. β Herz	—	—	—	—	1/16
Sér. α Buh	1/32	—	1/8 (R)	éliminé	—
Sér. α Moell	1/32	—	1/16 (R)	—	—
Sér. α Mull	—	1/32	1/64 (R)	—	—
Sér. α Ryol	—	1/32	1/32 (R)	—	—
Sér. α Ull	—	—	1/1024	1/1024 (R)	—
Sér. α Engem	—	—	—	1/64	1/64 (R)
Sér. α Schwa	—	—	—	1/64	—
Sér. α β Beiz	α = 1/64 β = 1/8	—	α = 1/64 β = 1/8 (R)	—	—
Sér. α β Engel	α = 1/32 β = 1/8	α = 1 β = 1/8 éliminé	—	—	—
Sér. α β Kulling	α = 1/8 β = 1/4	—	α = 1/16 β = 1/4 à 1/8 (R)	—	—
Sér. α β Souline	α = 1/64 β = 1/32	—	α = 1/64 β = 1/32 (R)	—	—
Sér. α β Becht	—	—	α = 1/64 β = 1/32 à 1/64	—	α = 1/64 (R) β = 1/64
Sér. α β Wal	—	—	—	α = 1/64 β = 1/32	—
Sér. α β Tuget	—	—	—	α = 1/64 β = 1/64	—
Sér. α β Ri	—	—	—	—	α = 1/256 β = 1/32-1/64
Sér. α β Be	—	—	—	α = 1/512 β = 1/32	—

(R) signifie retitrage.

Ainsi M. Laguna cite un cas où le groupe A 2 B n'a pu être mis en évidence qu'avec un sérum α titrant 1/1024 à 1/2048 (33).

D'ailleurs ce qui frappe à la lecture des résultats de titrage, c'est le taux nettement plus élevé des sérums α par rapport au taux des sérums β (34).

La plupart des sérums α titrent facilement 1/64, tandis que les sérums β n'atteignent en général que 1/16 à 1/32.

Pour connaître le chiffre exact de la dilution à laquelle le sérum α Ull... est encore actif, nous avons procédé avec ce sérum à une deuxième rangée de dilution de 1/128 à 1/4096. Les globules-étalons A se sont encore agglutinés très nettement à une dilution sérique de 1/1024 (titrage du 19-2-36 et du 4-7-1936).

Il en est de même pour les sérums α β : il y a une inégalité marquée de l'activité des deux agglutinines de ce sérum en faveur de l'agglutinine α.

Exemple : sérum α β Be... α = 1/512, β = 1/32 (titrage du 4-7- 31 96).

D'ailleurs, les chiffres que nous avons trouvés, concordent avec ceux cités par MM. Farjot et Spriet (35).

Il est donc relativement facile de trouver des sérums-tests α très actifs, mais leur approvisionnement est malaisé. La difficulté provient du fait que le groupe B est relativement rare en Europe occidentale et en Alsace en particulier. Mlle le Docteur Grootten et M. Kossovitch l'estiment à 10 % (42). Ainsi, il est souvent difficile de trouver plusieurs individus du groupe B pour pouvoir procéder à une sélection de leurs sérums.

Titrage des sérums des donneurs universels :

En sélectionnant les donneurs universels de groupe O, on part du principe que l'agglutination des

hématies du donneur par le sérum du receveur est la seule à redouter.

L'agglutination inverse (sérum du donneur agissant sur les globules du receveur) ne provoquerait aucun accident, grâce à la dilution suffisante du sang transfusé dans le sang du receveur.

Or, ces temps derniers, on a beaucoup parlé de donneurs universels dangereux dont le sérum provoque l'agglutination et l'hémolyse des globules rouges du receveur: d'où accidents post-transfusionnels qui peuvent être mortels.

M. Halter, en Allemagne, en cite un cas probant. D'après lui, il faut tenir compte du rapport de la masse du sang transfusé et de la masse du sang circulant du receveur, et surtout du titre des agglutinines sériques du donneur par rapport aux globules rouges du receveur. Si le taux est bas (1/16), le danger d'agglutination rétrograde n'est pas grand (36).

D'ailleurs la plupart des auteurs allemands refusent de transfuser du sang uniquement compatible. Ils exigent pour la transfusion l'égalité de groupe du donneur et du receveur.

M. Wildegans prétend que les donneurs universels du groupe O sont dangereux, parce qu'on trouve très souvent dans leur sang des iso-hémolysines qui peuvent être très actives, surtout vis-à-vis d'un sang A (37).

Les auteurs français sont moins rigoristes et n'exigent l'égalité de groupe qu'en cas de transfusion médicale (41-26).

Cependant, il est certain que les agglutinines très actives du sérum du donneur peuvent être nocives pour le receveur.

Schiff conseille, pour éliminer des donneurs dangereux, d'employer la technique de Coca, qui tient compte

du rapport de la dilution du sang transfusé dans le sang du receveur (1).

Technique de Coca :

Dans les tubes à séro-réaction, on procède à la défibrination de quelques gouttes des sangs du donneur et du receveur. A l'aide d'une pipette à numération leucocytaire, le sang du receveur est dilué à moitié par l'eau physiologique. On porte une quantité de la solution, correspondant à dix divisions de la pipette, sur une lame de verre.

La pipette est lavée.

Puis toujours à l'aide de cette pipette, le sang du donneur est dilué à moitié par de l'eau physiologique. De cette dernière solution, on porte une quantité correspondant à 10 divisions de la pipette, sur l'autre extrémité de la même lame de verre. Deux parties de la solution du sang du donneur sont alors mélangées à dix parties de la solution du sang du receveur.

On recouvre la préparation d'une lamelle en ayant soin d'éviter les bulles d'air et on observe au microscope (jusqu'à 15 minutes, au faible grossissement). La lamelle doit être remuée plusieurs fois.

Le donneur n'est pas à employer s'il y a agglutination (1).

On ne peut procéder à cette épreuve qu'immédiatement avant la transfusion, puisque le receveur est connu. De plus, c'est un procédé un peu compliqué et qui demande du temps pour être fait correctement.

Les auteurs allemands procèdent au titrage du sérum du donneur comme d'habitude, en éprouvant les dilutions progressives de 1/2 cc. de sérum dilué de 1/2 à 1/4096, etc. par une goutte de suspension globulaire du receveur A, B ou A B diluée à 1/4. Le but de ce

titrage est l'inverse de celui des sérums-tests : on élimine tous les donneurs dont le taux agglutinant dépasse une certaine limite fixée d'avance. MM. Hesse et Grunewald fixent cette limite à 1/16 (38-39).

Il nous semble que ce titre est choisi un peu trop bas et qu'un donneur à taux sérique un peu plus élevé ne peut pas encore être qualifié de dangereux.

MM. Farjot et Spriet considèrent comme normaux les sérums possédant des agglutinines actives jusqu'à la dilution de 1/2.000. L'agglutination à 1/4.000, dont ils relèvent un seul cas sur 50, doit être considérée comme exceptionnelle. Ils supposent : « que c'est ce taux élevé qui doit se retrouver chez les donneurs dangereux, les auteurs américains relèvent 2 % à 4% de pareils individus » (35).

Les sérums des donneurs universels d'un Centre de Transfusion d'urgence ne pourraient être titrés qu'avec des suspensions de globules-étalons A et B, puisque les receveurs ne sont pas connus et puisque le titrage, demandant du temps et du matériel, est difficilement réalisable immédiatement avant la transfusion.

Contrôle de la spécificité des sérums-tests et des globules étalons :

Nous y procédons de temps en temps pendant les séances de titrage.

Technique : Les tubes à séro-réactions contenant 1/2 cc. de sérum pur pour I goutte de suspension de globules étalons A, B, O, sont centrifugés (pendant 30 secondes à raison de 1.500 tours par minute), après 15 minutes de repos.

A la lecture les résultats doivent être les suivants :

Sérum étiqueté β + globules A = 0
Sérum étiqueté β + globules B = + (1)

Sérum étiqueté α + globules A = +
Sérum étiqueté α + globules B = 0 (2)

Sérum étiqueté α β + globules A = +
Sérum étiqueté α β + globules B = + (3)

Sérum étiqueté α β + globules 0 = 0
Sérum étiqueté α + globules 0 = 0 (4)
Sérum étiqueté β + globules 0 = 0

CONTROLE GLOBULAIRE :

Sérum ABo + globules A = 0
Sérum ABo + globules B = 0 (5)
Sérum ABo + globules 0 = 0

Sérum physiologique + globules A = 0
Sérum physiologique + globules B = 0 (6)
Sérum physiologique + globules 0 = 0

O signifie agglutination négative.

+ signifie agglutination positive.

Ce qui importe, ce sont les réactions 1, 2, 3. Les réactions 4, 5 et 6 ne sont à faire que si les équations 1, 2, 3 ne sont pas vérifiées à la lecture des résultats.

Les réactions 4 sont à faire si on soupçonne une pseudo-agglutination ou une pan-agglutination d'origine sérique; comme les globules O ne donnent jamais lieu à une iso-agglutination vraie, les réactions doivent être négatives si les sérums sont spécifiques et non empilants.

Les réactions 5 sont faites pour éprouver les suspensios globulaires A, B et O au point de vue infection microbienne (phénomène de Hubener-Thomsen).

Cette infection survient très facilement dans de vieilles suspensions globulaires; d'après SCHIFF, on la trouve quelquefois dans les suspensions globulaires au bout de 15 heures.

Ces suspensions infectées sont pan-agglutinables, et peuvent par conséquent donner lieu à des erreurs très graves. Comme le sérum A Bo ne possède pas de pou-

voir agglutinant, les réactions doivent être négatives si les suspensions globulaires ne sont pas altérées.

Enfin, par les réactions 6, on peut contrôler, soit les suspensions d'hématies au point de vue altération microbienne, soit les sérums s'ils donnent lieu à des agglutinations atypiques, dues au pouvoir empilant ou aux agglutinations aspécifiques par le froid (48).

Jusqu'à présent, nous n'avons jamais eu d'autres résultats que ceux prévus d'avance : les sérums sont tous restés spécifiques.

Conservation des sérums-tests :

Les sérums in-vitro vieillissent facilement; leur teneur en agglutinine baisse plus ou moins rapidement. L'incident du 20 novembre 1935 prouve avec quelle rapidité certains sérums baissent en activité.

A la séance de triage, on remarque que le sérum-test $\alpha\beta$ Engel... est très peu actif au point de vue α. En effet, on observe les réactions suivantes :

Sérum-test α + globules X = +
Sérum-test β + globules X = 0
Sérum-test $\alpha\beta$ Engel... + globules X = ?
(ébauche d'agglutination)

Ce sérum $\alpha\beta$ Engel... avait été titré le 8-10-1935. On avait trouvé $\alpha = 1/32$ (à peine) ; $\beta = 1/8$ à la loupe.

On refait le titrage le 30 novembre 1935. Le sérum est dilué, les globules A ne semblent pas être agglutinés; il y a cependant une ébauche d'agglutination à la loupe.

On observe une agglutination visible à l'œil nu, si on prend I goutte de sérum non dilué et I goutte de dilution globulaire A à 1/4. $\beta = 1/8$ à la loupe.

Quelquefois, il se fait donc une baisse très rapide de l'activité des agglutinines sériques in vitro, malgré

préparation et conservation soignées. D'où l'utilité de refaire les titrages de sérums-tests tous les mois ou tous les deux mois.

La littérature abonde en exemples au sujet du sérum $\alpha\,\beta$ dont une agglutinine diminue rapidement, tandis que l'autre garde pendant longtemps son taux d'activité initiale (41).

Les sérums purs, conservés en récipients ouverts, non mis à l'abri de la chaleur ou de la lumière, s'altèrent vite et ne peuvent plus être utilisés après 2 à 3 jours.

Cependant, s'ils sont conservés correctement, ils peuvent être actifs et spécifiques pendant un temps relativement très long. Ils sont alors utilisables aussi longtemps que le titrage, refait régulièrement tous les deux à trois mois, ne révèle pas une baisse importante de leur taux en agglutinine, ou une absence de spécificité.

Mais il vaut mieux rester en deçà du délai d'utilisation que de risquer par imprudence des erreurs de groupement dangereuses : un sérum conservé pendant un certain temps et qui agglutine encore des globules rouges assez sensibles, peut être cependant diminué en activité et ne plus réagir vis-à-vis des globules rouges résistants (1).

1. *Conservation de sérums-tests purs :*

Ils doivent être préparés d'une façon rigoureusement aseptique et mis en ampoules préalablement passées au poupinel. Le remplissage se fait par le vide (la pointe des ampoules est ouverte et plonge dans le sérum contenu dans des verres à pied stériles; ces derniers sont placés sous une cloche en communication avec une trompe à eau). Les ampoules remplies sont alors fermées au bec Bunsen et conservées à la glacière à température constante (+ 2°).

Si une ampoule ouverte contient encore du sérum, elle doit être refermée au plus tôt et remise à la glacière pour pouvoir employer plus tard le sérum restant.

2. *Conservation de sérums-tests additionnés d'antiseptiques chimiques.*

Ces sérums ont l'avantage de pouvoir être conservés à la température habituelle; leur préparation demande moins de précautions d'aseptie, mais ils présentent toujours une certaine diminution de leur activité agglutinante, due à l'adjonction de l'antiseptique.

Celui-ci ne doit pas être quelconque; il faut en choisir un, qui est peu ou pas nocif pour les albumines du sérum. De plus il faut savoir le doser judicieusement : des doses trop élevées ne sont plus compatibles avec la conservation des propriétés sériques agglutinantes; si on utilise des concentrations trop faibles, les sérums sont exposés à l'infection microbienne au bout de un à 2 mois.

Les auteurs compétents sont plutôt méfiants à l'égard des sérums-tests additionnés de substances chimiques; ils proposent cependant les solutions de phénol, de crésol au 100e, de formol, d'acide salicylique, de liqueur de Labarraque, etc...

Le Rasle, Gonon et Paris recommandent particulièrement les solutions de quinosol à 10 % et à 5 % (43-23).

M. Kossovitsch conseille d'employer le tricrésol à l'état de trace.

Sur la demande de notre maître, le professeur Simonin, nous avons fait une petite étude comparative à ce sujet.

Après prélèvement et préparation aseptique de sérums-tests α, β et $\alpha\beta$, nous avons fait de chaque sérum trois parts de volume sensiblement égal.

1. Une partie a été conservée comme d'habitude à l'état pur, en ampoules, mises à la glacière à 2° ;

2. Une autre partie a été additionnée d'une solution de quinosol à 5 % :

10 cc. d'eau physiologique,

0,50 grammes de quinosol.

Avec une pipette jaugeant XXX gouttes au gramme, nous avons versé III gouttes de cette solution pour un cc. de sérum, soit 2 cc. de la solution de quinosol à 5 % pour 20 cc. de sérum pur. La dilution finale est donc de 0,5 %.

3. A la troisième partie nous avons ajouté une solution de tricrésol au 1/10.000 :

100 cc. d'eau physiologique,

0,10 cc. de tricrésol.

XXX gouttes de cette solution (= 1 cc.) ont été mélangées à 20 cc. de sérum. La solution finale est de 1/200.000.

Les sérums quinosolés et tricrésolés ont été également mis en ampoules stériles et fermées à la flamme. Les sérums purs sont conservés à la glacière à + 2°, tandis que les sérums additionnés de quinosol et de tricrésol ont été laissées au Laboratoire à la température de 18° à 23°, dans des boîtes de carton.

Nous avons procédé à quatre titrages dont les résultats figurent sur le tableau ci-joint : ces résultats ne sont évidemment pas concluants, le temps écoulé étant relativement court.

Cependant nous pouvons dire que jusqu'au dernier titrage (24 Novembre 1936) :

1. l'addition des antiseptiques n'a pas considérablement abaissé l'activité agglutinante des sérums ;

2. bien qu'additionnés de produits chimiques, les sérums ont gardé leur spécificité ; (nous avons procédé aux épreuves correspondantes à la dernière séance de titrage).

3. le taux des agglutinines sériques se maintient sensiblement au même niveau depuis cinq mois, dans les trois catégories de sérum : la nature des antiseptiques semble être assez bien choisie en vue de la conservation des sérums. Cependant il y aurait lieu, nous semble-t-il, d'élever un peu la concentration des antiseptiques.

Ainsi, à la dernière séance de titrage, nous avons trouvé une ampoule de sérum ♀ au tricrésol présentant des signes nets d'infection microbienne (le sérum a l'aspect de bouillon sale) : nous l'avons titré, il avait conservé entièrement le taux initial de son activité sérique, de même que sa spécificité. Il s'agit vraisemblablement d'une infection due au staphylocoque, qui n'influencerait en rien le degré d'activité et la spécificité des sérums (43).

M. Blinov conseille l'emploi de sérums-tests desséchés purs. Ces poudres et ces crayons présenteraient l'avantage de pouvoir être conservés facilement et indéfiniment sans baisse de leur taux d'agglutinine (44).

Il nous semble cependant que leur préparation difficile et leur manipulation un peu spéciale en excluent l'emploi dans un contrôle hématologique d'un Centre de transfusion sanguine d'urgence.

Conservation des Sérums-Tests

Sérums prélevés le 8/VI/1936 préparés le 10/VI/1936	Titrage du 4/VII 36	Titrage du 12/VIII/36	Titrage du 26/IX/36	Titrage du 24/XI/36
Sérum β pur	1/16	1/16	1/8 — 1/16	1/8 — 1/16
Serum β quinosolé à 1/200 . .	1/8	1/8	1/8	1/8
Sérum β tricrésolé à 1/200.000 .	1/16	1/8 — 1/16	1/8 — 1/16	1/8 — 1/16
Sérum α pur	1/1024	1/1024	1/512 — 1/1024	1/512 — 1/1024
Sérum α quinosolé à 1/200 . .	1/1024	1/1024	1/1024	1/256 — 1/512
Sérum α tricrésolé à 1/200.000 .	1/1024	1/1024	1/1024	1/256 — 1/512
Sérum α β pur	α = 1/512 β = 1/32	α = 1/512 β = 1/16	α = 1/512 β = 1/16	α = 1/64 β = 1/8 — 1 16
Sérum α β quinosolé à 1/200. .	α = 1/512 β = 1/8 — 1/16	α = 1/512 β = 1/8 — 1/16	α = 1/512 β = 1/8 — 1/16	α = 1/64 β = 1/8 — 1 16
Sérum α β tricrésolé à 1/200.000	α = 1/512 β = 1/32	α = 1/512 β = 1/32	α = 1/256—1/512 β = 32	α = 1/256—1/512 β = 1/8—1/16

Chapitre V

LES GLOBULES ETALONS

Sélection.

Au Centre de Transfusion sanguine de Strasbourg, nous avons deux fois recours aux examens avec globules étalons A et B dans les circonstances suivantes :

1. A la séance de contrôle des sérums de donneurs universels où nous employons les sangs A et B purs, obtenus extemporanément.

2. Aux séances de titrage de sérums-tests où nous utilisons des suspensions globulaires A et B préparées d'avance.

Les donneurs des globules étalons A et B sont sélectionnés après identification soignée de leur groupe sanguin parmi le personnel faisant partie du contrôle sérologique en particulier, et parmi le personnel de l'hôpital civil en général. Suivant les individus, les globules sont plus ou moins sensibles aux agglutinines des sérums.

Pour le contrôle des sérums des donneurs universels il y a lieu de choisir des globules particulièrement sensibles aux agglutinines.

Dans ce but, il faut comparer entre eux différents échantillons globulaires du même groupe sanguin en les titrant successivement avec le même sérum, de préférence de faible activité agglutinante et en dilution progressive de 1/2 à 1/64. L'échantillon globulaire agglutiné par la plus forte dilution sérique peut être considéré en général comme le plus sensible à l'agglutination. C'est lui qu'il faut choisir en vue du contrôle des sérums des donneurs universels.

La propriété agglutinogène in vivo varie très peu au cours de l'existence; il n'est donc pas nécessaire de répéter très souvent le titrage des échantillons globulaires.

Titrage des échantillons globulaires.

Aux deux premières séances de titrage des sérums-tests, nous avions employé :

1. Comme globules étalons A ceux de Mlle H...
   Comme globules étalons B ceux de Mlle K...
2. Une centrifugeuse à l'eau.

Depuis le mois de février dernier, nous travaillons :

1. avec les globules étalons A prélevés chez M. Ko...
   avec les globules étalons B prélevés chez M. Ull...
2. Avec une centrifugeuse électrique.

D'après les résultats des séances de titrage du 30-11-35 et du 19-2-36, certains sérums auraient augmenté de taux agglutinant. Exemple :

	30.11.35	19.2.36
Sérum β M.....	1/8 à 1/16	1/16
Sérum β Ne.....	1/16	1/32
Sérum α Mu.....	1/32	1/64
Sérum α β Ku...	α = 1/8 β = 1/4	α = 1/16 β = 1/4

Ceci ne peut être dû qu'à la plus grande sensibilité des solutions de globules étalons A et B employés depuis le 19-2-36. C'est à la suite de cet incident que nous avons fait un titrage de quelques échantillons globulaires.

Nous avions à notre disposition six sujets :
3 sujets du groupe A (M. S..., Mlle H..., M. Ko...)
3 sujets du groupe B (M. Ull..., Mlle K..., M. Co...)

1. Avec le sérum β Ko... (faible), nous obtenons :
   Agglutination 1/16-1/32 avec globules B, Ull...
   Agglutination 1/8-1/16 avec globules B, Co...
   Agglutination 1/4-1/8 avec globules B, Mlle K...
2. Avec le sérum α Bu... (faible), nous obtenons :
   Agglutination 1/32 avec globules A, Ko...
   Agglutination 1/8-1/16 avec globules A, S...
   Agglutination 1/8 avec globules A, Mlle H...
3. Avec le sérum α β Ku... (faible), nous obtenons :
   Agglutination pour α 1/16 avec globules A, Ko...
   1/16 avec globules A, S...
   1/8 avec globules A, M^lle H...
   Agglutination pour β 1/4-1/8 avec globules B, Ull..
   1/4 avec globules B, Co...
   1/2 avec globules B, M^lle K...

Pour le titrage des sérums-tests, il serait préférable d'utiliser des échantillons de globules résistants (23). Il aurait donc fallu choisir les globules A de Mlle H... et les globules B de Mlle K.... Néanmoins, pour des raisons d'ordre pratique, nous avons continué à nous servir des globules A, Ko... et des globules B, Ull.... A notre avis, ce qui importe avant tout pour le titrage des sérums-tests, c'est d'utiliser les globules-étalons provenant toujours des mêmes sujets. Autrement les résultats des titrages de sérums-tests n'ont aucune signification.

Préparation des suspensions globulaires.

1. Pour l'emploi immédiat lors de la séance de contrôle, nous utilisons le sang pur et frais. La technique de prèlèvement a été décrite au moment de la description du contrôle sérologique des sérums des donneurs universels. Nous tenons à répéter qu'il est essentiel d'avoir toujours la même proportion séroglobulaire : 1/10 environ de globules pour 9/10 de sérum.

2. Nous utilisons des suspensions globulaires simples A et B à la séance de contrôle s'il se présente un cas compliqué. Nous avons également décrit plus haut la préparation de ces suspensions et la technique que nous employons dans ces cas (voir : méthodes de réactions d'iso-agglutination en tubes).

3. Emploi de suspensions globulaires citratées A et B. Nous les utilisons aux séances de titrage de sérum-test.

Préparation : Le prélèvement de deux échantillons de sang A et B (sujets Ko... et Ull...) est fait stérilement, toujours à la même heure, en dehors de la période digestive, la veille de la séance de titrage.

Nous procédons par ponction veineuse au pli du coude avec une aiguille adaptée à une seringue de 1 cc. contenant 0,2 cc. d'une solution de citrate de soude à 5 %. Nous faisons, chez chaque donneur, une prise de 0.8 cc. de sang. En agitant légèrement la seringue, nous mélangeons sang et citrate. Puis le sang citraté est versé dans des tubes stériles qui sont étiquetés A et B, et mis à la glacière pendant la nuit. Le lendemain, nous enlevons le sérum exsudé (par sédimentation globulaire) à l'aide d'une pipette stérile. D'après certains auteurs, il exercerait, même à l'état dilué, une action inhibitrice sur l'agglutination des globules rouges par le sérum d'un autre groupe sanguin (10).

Nous ajoutons encore une quantité d'eau physiologique égale à celle du sérum enlevé, pour retrouver le volume sanguin primitif.

Puis nous faisons une dilution globulaire à 1/4 en ajoutant 3/4 d'eau physiologique stérile (comme 0,8 cc. de sang = 1/4, il faut donc ajouter 2,4 cc. d'eau physiologique). Si I goutte de cette suspension globulaire à 1/4 est mélangée à 0,5 cc. [XV gouttes] de dilution sérique, on obtient en définitive une dilution globulaire de 1 % à 2 % [2]). [Nous employons toujours des pipettes jaugeant XXX gouttes au gramme].

Nous ne croyons pas utile de devoir procéder au lavage des globules. Les globules lavés laquent facilement et d'après certains auteurs, ils perdraient par lavage, une partie de leurs propriétés agglutinables (45-46).

Au cours des titrages de sérums-tests, nous nous efforçons de manipuler les suspensions globulaires avec beaucoup de précaution : ne pas trop les agiter, en prélever le sang avec des pipettes propres, soigneusement étiquetées A et B. (La suspension globulaire A en contact avec une pipette ayant servi à prélever de la suspension B, n'est plus utilisable). Tout ceci pour éviter le laquage et l'infection globulaires qui peuvent mener à des graves erreurs.

Comme nous avons à faire 20 à 25 titrages en une séance et que nous avons par conséquent besoin d'une certaine quantité de suspension globulaire, nous croyons faire mieux en prélevant les sangs étalons par ponction veineuse : elle peut être faite plus rapidement, plus aseptiquement et plus exactement au point de vue quantitatif que la prise de sang par piqûre à la pulpe du doigt par l'aiguille de Francke.

Ce dernier procédé est bon s'il faut des suspensions globulaires en petite quantité, devant être utilisées immédiatement.

Conservation des globules étalons.

Nous n'en avons aucune expérience, étant donné que nous ne conservons les suspensions globulaires jamais plus de deux jours : nous nous efforçons toujours de faire tous les titrages dans un délai aussi court que possible pour éviter l'infection microbienne de la solution globulaire qui peut devenir une source d'erreur.

Cependant, si le prélèvement, la préparation et la manipulation du sang sont faits d'une manière aseptique et si le sang est toujours conservé à la glacière, il peut être utilisé pendant 4 à 5 jours (1).

C'est Mino qui mit à la mode la conservation des globules étalons en tubes capillaires de verre (43).

De même, Schiff, Lattès, Blinov prétendent que le sang se conserve le mieux à l'état pur, coagulé, en tubes capillaires de verre; il peut alors être utilisé jusqu'à 80 jours (1-2-46).

Le Rasle, Lattès et Schiff parlent de solutions citratés, distribuées dans des ampoules préalablement passées au poupinel et fermées au bec Bunsen après le remplissage. (Conservation pendant 8 à 15 jours). [1-2-43].

D'après Schiff, on peut aussi ajouter d'autres produits aseptiques comme la formaline (0.1 cc. pour 10 cc. de liquide à 10 %) ou l'eau oxygénée à 1/1.000 qui conservent pendant 4 à 5 jours (1).

Blinov prétend que les produits chimiques provoquent une hémolyse des globules et rendent ainsi le sang inutilisable (46).

Schiff et surtout Moureau conseillent l'emploi du liquide de Rous et Robertson de formule :

3 parties de citrate de soude : 3,8 %
4 parties de dextrose : 5,4 %
3 parties de sang

Le sang s'y conserverait pendant 3 semaines à la glacière sans infection, ni hémolyse (1-28).

Il faut évidemment avoir recours à un de ces procédés si on a journellement besoin de suspensions globulaires étalons.

Dans le cas de contrôle sérologique du Centre de Transfusion sanguine de Strasbourg, où nous n'utilisons les solutions globulaires que toutes les quelques semaines, il vaut mieux les employer fraîchement préparées.

Les sérologues suisses ont mis au point une méthode de conservation de substances antigéniques étalons : ils proposent pour les agglutinations l'utilisation de stromas-globulaires étalons obtenus par hémolyse des globules. Il est évident que le taux de la substance agglutinante baisse par ce procédé, par contre, il serait beaucoup plus facile de conserver pendant longtemps les stromas avec un taux d'agglutinogène très stable (45).

Chapitre VI

LES CAUSES D'ERREUR

dans les épreuves de détermination de groupe et de compatibilité sanguine

---

1. *Erreurs par défaut d'agglutination.*

Nous pouvons en parler en connaissance de cause : tous les incidents lors des séances de contrôle et de triage en relèvent.

a) Ces erreurs sont dues à la présence de globules résistants, ne se laissant pas agglutiner par les sérums-tests trop peu actifs.

Il s'agit dans la plupart de ces cas de globules A2 ou A2B qui sont faussement groupés O ou B. Citons les deux incidents de la séance de triage du 4-10-35 et un incident du même genre du 5-2-36.

1^er^ incident.

A la détermination des groupes sanguins par les sérums-tests, Mlle Den... est classée groupe O.

Le lendemain, à la séance de vérification, le sérum de Mlle Den... est mis en contact avec des globules A et

des globules B : le mélange séro-globulaire reste homogène dans les deux cas : il n'y a donc pas d'agglutination.

On reconvoque Mlle Den... ; on refait la réaction de Beth-Vincent. Les trois sérums β, α et α β agglutinent les globules de Mlle Den... ; mais on est frappé par la lenteur et la faiblesse avec laquelle ses globules sont agglutinés par le sérum α.

Mlle Den... est du groupe A B o, probablement même du groupe A2Bo, puisque l'agglutinogène A est faible.

On n'a pas pu connaître le titre des sérums-tests employés à la séance du 4-10-35. A la séance de contrôle, les sérums β, α et α β titraient respectivement :

$$\beta = 1/32$$
$$\alpha = 1/32$$
$$\alpha\beta \begin{cases} \alpha = 1/64 \\ \beta = 1/32 \end{cases}$$

Pour grouper correctement les sujets A2 et A2B, il faut travailler avec des sérums-tests α très actifs.

2e incident.

A la séance d'identification le nommé Felk... est reconnu être du groupe Bα par l'épreuve de Beth-Vincent aux trois sérums-tests agissant sur les globules du sujet.

Comme le groupe est rare, on procède à la même séance à une prise de sang veineuse chez M. Felk... en vue de la préparation de sérum-test.

A la séance de titrage des sérums-tests, le sérum Felk..., dilué respectivement de 1/2 à 1/64, est mis en contact avec une suspension globulaire A de 1/4. Nous remarquons qu'il n'y a aucune agglutination. Même résultat après une deuxième centrifugation.

Le lendemain, le même sérum non dilué est éprouvé par des globules A puis par des globules B frais : il n'y a aucune agglutination.

Quelque temps après, on reconvoque M. Felk... et on procède à une nouvelle épreuve de Beth-Vincent avec des sérums-tests β, α et α β titrant respectivement :

$$\beta = 1/32$$
$$\alpha = 1/32$$
$$\alpha\,\beta \begin{cases} \alpha = 1/64 \\ \beta = 1/32 \end{cases}$$

Les globules Felk... ne semblent pas être agglutinés par le sérum α. Après dilution des globules Felk..., nouveau Beth-Vincent : on observe une très faible agglutination, à peine évidente, par le sérum α.

On procède alors à l'épreuve de la centrifugation de I goutte de suspension globulaire à 1/4 (globules Felk...) dans 1/2 cc. de sérum α et de sérum β non dilués, et dans 1/2 cc. de sérum α et 1/2 cc. de sérum β dilués à 1/2. Il y a une agglutination très nette pour les sérums β. L'agglutination est nette également pour les sérums α; les grumeaux sont visibles à l'œil nu.

Les sérums-tests employés à la séance du 4 octobre 1935 n'avaient pas été titrés.

Le sujet est du groupe ABo. Il s'agit probablement d'un groupe A2Bo, puisque la propriété A semble être très faible.

Incident du 5 février 1936.

D'après l'examen globulaire par l'épreuve de Beth-Vincent, à la séance de triage, M. Stroes... fait partie du groupe O. A la séance de contrôle par l'examen des sérums, celui de Stroes... agglutine les globules étalons B. Il n'y a pas d'agglutination avec les globules étalons A.

On procède aux épreuves de centrifugation : sérum Stroes... + suspension à 1/4 de globules A et sérum Stroes... + suspension à 1/4 de globules B; d'autre part centrifugation des globules Stroes... dilués à 1/4, en

contact avec les sérums-tests β, α et αβ dilués à 1/2 et titrant respectivement β = 1/16, α = 1/32, αβ : α = 1/64, β = 1/32.

Résultats :

1. agglutination du sérum Stroes... et des globules B, pas d'agglutination du sérum Stroes... et des globules A;

2. agglutination des globules Stroes... et du sérum α, agglutination des globules Stroes... et du sérum αβ, pas d'agglutination des globules Stroes et du sérum β. Donc le sujet est du groupe A et très probablement du groupe A2, puisque son agglutinogène A est très faible.

Taux des sérums-tests employés à la séance de triage du 4-2-36 (sérums-tests titrés le 30-11-35) :

1er opérateur, Dr L... : β = 1/16
α = 1/32
αβ { α = 1/32
β = 1/8

2e opérateur, Dr W... : β = 1/16
α = 1/32
αβ { α = 1/16
β = 1/8

Il est évident que les sérums α et l'agglutinine α du sérum αβ étaient trop faibles.

Le seul remède dans ces cas est de travailler avec un sérum-test α extrêmement actif. Nous en avons déjà parlé plus haut.

La sélection des séurms-tests actifs, rendue possible grâce au titrage des agglutinines sériques, a donc un réel intérêt.

b) Enfin, il arrive que le défaut d'agglutination soit dû à l'emploi d'une goutte de sang trop concentré. Le mélange séro-globulaire a un aspect homogène, dû à la

coagulation des globules empêchés de se grouper en agglutinats. Il ne faut donc employer que 1/10 environ de globules pour 9/10 de sérum dans toutes les épreuves de compatibilité faites sur lame.

c) Schiff cite les agglutinations tardives vraies : il est évident qu'on peut passer à côté d'une agglutination positive faite sur lame qui ne se produit qu'au bout de dix à quinze minutes : elle sera d'ailleurs suspecte et sujette à caution même si l'on s'en aperçoit. Pour trancher la question, la réaction devra être refaite en tubes avec centrifugation; c'est un bon moyen pour accélérer l'agglutination (1).

2. *Les groupes aberrants.*

Ce sont des sangs dont les propriétés sériques ou les propriétés globulaires ne sont pas en concordance avec la loi de Landsteiner.

a) L'anomalie peut être due à un défaut de « mûrissement sérique ». Chez le fœtus et le petit enfant, l'absence complète ou la faiblesse des agglutinines sériques est physiologique. Certains sangs d'adultes sont restés à ce stade et forment les groupes sanguins incomplets. (Formules de groupe : O$^{\alpha}$; Ao, etc...). Il n'est pas rare que les maladies du sang comme la leucémie et certaines maladies cachectisantes (cancer, cirrhoses ascitiques) donnent également lieu à des anomalies de ce genre (1).

b) L'existence d'agglutinines irrégulières ou supplémentaires fut mise en évidence par Landsteiner qui les trouva très fréquentes dans les groupes A2$^{\beta}$ et A2Bo (1).

De temps en temps, on en cite des exemples dans la littérature. Ainsi l'auteur allemand Fritz aurait trouvé des sangs de formule A2 $^{\alpha\beta}$ (agglutinine $^{\alpha}$ particulièrement active) et de formule A2 B $^{\alpha}$ (47).

D'après Schiff, il existerait de même des anomalies au point de vue agglutinogène (1).

Personnellement, nous n'avons pas d'expérience à ce sujet. Le contrôle hématologique prétransfusionnel du Centre de Strasbourg porte sur le sang des donneurs universels qui sont en général des sujets normaux au point de vue sanguin. Il est évident qu'un individu présentant des anomalies de groupe quelconques ne doit jamais être donneur.

L'existence d'un groupe sanguin aberrant chez un malade receveur réclame, lors du choix du donneur, des précautions toutes particulières.

3. *Les fausses agglutinations.*

a) La pseudo-agglutination n'est pas due à la présence d'une agglutinine : les réactions d'absorption, en cas de pseudo-agglutination simple, non associée d'agglutination vraie, sont toujours négatives.

La pseudo-agglutination est « un phénomène physico-chimique où interviennent la viscosité sanguine, la charge électrique des hématies et des albumines du sang, ainsi que la vitesse de sédimentation » (16).

Nous ne pouvons en parler en connaissance de cause ; la pseudo-agglutination est surtout fréquente à l'épreuve directe de Jeanbrau exécutée au lit du malade receveur (les globules du donneur sont mélangés au sérum frais du receveur). Les sérums frais possèdent un pouvoir empilant particulièrement actif.

Résumons rapidement les moyens habituels pour dépister et éviter la pseudo-agglutination.

Pour éviter la pseudo-agglutination lors des épreuves faites sur lame, il faut :

1. Utiliser les sérums-tests non à l'état frais (préparation).

2. Utiliser des sérums-tests non infectés (conservation).

3. Utiliser les globules à examiner à la proportion de 1/4 environ pour 3/4 de sérum.

4. Utiliser des suspensions globulaires dans certains cas.

5. Balancer la lame entre les doigts pendant 2 à 3 minutes.

Pour reconnaître la pseudo-agglutination, il faut procéder :

1. A la dilution secondaire (bien étudiée par notre maître, le professeur SIMONIN) [16];

2. Au contrôle microscopique. (Les piles de monnaie visibles au microscope, sont caractéristiques dans la pseudo-agglutination : elles n'apparaissent, dans les cas de pseudo-agglutination intense, qu'après dilution secondaire) [48];

3. A l'addition de substances telles que le kaolin ou la lécithine, etc..., en cas de lecture difficile (2-26).

Nous croyons n'avoir vu que très rarement la pseudo-agglutination; il nous semble cependant qu'il est facile pour un œil exercé de la distinguer d'une iso-agglutination vraie.

b) La pan-agglutination à froid de Mino est due à la présence d'agglutinines sériques, aspécifiques, agissant à basse température, mais pouvant persister jusqu'à la température de 20° à 30°. Les agglutinines sont absorbables par les globules rouges de même espèce, quelquefois du même individu (auto-agglutination) et peuvent être récupérées par une légère augmentation de température.

L'agglutination à froid est très peu intense à température ordinaire, de sorte qu'il est souvent difficile de la reconnaître à l'œil nu. Elle disparaît sûrement à 37° (48).

Nous n'avons jamais vu des agglutinations de ce genre. Pour les éviter, nos sérums-tests sont préparés à froid, à + 2°, de façon à faire absorber les pan-agglutinines sériques.

c) Les agglutinations non spécifiques de vieilles suspensions globulaires sont également dues à une agglutinine absorbable. Elles ont été bien étudiées par Hubener, Thomsen et Friedenreich. Ils constatèrent que la pan-agglutinabilité de certaines suspensions d'hématies peut être transmise à des suspensions globulaires neuves.

Ils ont pu isoler plusieurs bacilles d'espèces différentes (M et J : bactéries des Corynes; bacilles virgules du groupe cholérique, cocobacilles Pierantonii) déterminant la transformation des hématies. Les filtrats des cultures microbiennes donnent lieu à la même transformation. Les globules transformés sont hémolysés par l'addition d'un complément (48).

Les solutions globulaires que nous employons aux séances de titrage de sérums-tests, sont préparées stérilement. Nous ne les conservons que pendant 15 heures ou 24 heures au plus. Jusqu'à présent elles n'ont jamais présenté de l'infection microbienne.

Technique d'examen dans les cas difficiles.

1. On emploie la méthode de Schiff (légère centrifugation des mélanges séro-globulaires en tubes, suivie d'agitation des mélanges), elle élimine en général la pseudo-agglutination en ce sens qu'elle ne la rend pas visible; mais elle ne permet pas non plus de saisir les agglutinations vraies, très faibles, atypiques, dues à la présence d'agglutinines irrégulières dans le sérum.

Schiff conseille de modifier légèrement la technique dans ces cas.

Les tubes contenant les mélanges sérums-globules sont mis au bain-marie de 20° C. et agités de temps en temps. On les sort après 2 heures et on procède au contrôle microscopique d'une goutte du mélange, déposée sur une lame de verre à l'aide d'une baguette de verre (1).

2. Citons les méthodes d'absorption quantitative des agglutinines et d'épuisement répété du sérum, bien décrites par notre maître, le professeur SIMONIN; ce sont les seules méthodes permettant de distinguer les agglutinations vraies des pseudo-agglutinations (16).

CONCLUSIONS

1. Le technicien chargé du contrôle hématologique prétransfusionnel doit être préoccupé de donner aux cliniciens le maximum de garantie.

2. La fixité des groupes sanguins chez l'homme est un point solidement établi. Les prétendus changements de groupe (49) et tous les incidents qui en résultent, sont dûs à des épreuves d'identifications erronées antérieures. Les antigènes et surtout les anticorps sanguins sont susceptibles, au cours d'une existence humaine, de varier en activité, ce qui donne quelquefois lieu à ces erreurs.

3. Une détermination exacte de groupe sanguin comporte donc un examen approfondi du sérum et des globules sanguins du sujet.

4. Les donneurs universels recrutés par les Centres de Transfusion sanguine d'urgence sont du type sérologique O $\alpha\beta$: leurs globules ne sont agglutinés par le sérum d'aucun autre groupe sanguin. Ainsi, dans les cas d'extrême urgence, on peut transfuser sans connaître le groupe sanguin du receveur et sans avoir fait une épreuve directe de compatibilité des deux sangs (receveur et donneur) au préalable.

5. Les épreuves directes, de compatibilité sanguine, sont faites par le clinicien immédiatement avant la transfusion; elles doivent en général servir de contrôle des

résultats trouvés lors des séances d'identification de groupe des donneurs. Dans d'autres cas, elles entrent seules en considération et décident de l'utilisation du donneur ou de son renvoi (s'il y a danger de choc anaphylactique par suite de transfusions répétées avec le même donneur, ou si le malade à transfuser est un sujet à sang instable).

6. Les épreuves sur lame, faites correctement, sont assez sensibles pour pouvoir être utilisées couramment dans les déterminations qualitatives. Elles sont remplacées avantageusement, s'il s'agit de cas compliqués et lors des épreuves quantitatives, par la méthode de Schiff des tubes à séro-réactions, avec centrifugation.

7. Le technicien chargé du contrôle hématologique doit avoir à sa disposition des sujets appartenant à tous les groupes sanguins, à propriétés sériques et globulaires bien définies, auxquels on peut s'adresser pour obtenir des sérums-tests et des suspensions de globules-étalons.

8. *a)* La préparation et la conservation des sérums-tests demandent beaucoup de soins. Si la conservation de sérums-tests purs à la glacière est impossible, il faut adjoindre aux sérums des antiseptiques compatibles avec la bonne conservation de la spécificité et du taux d'activité agglutinante de ces sérums.

b) Le titrage des sérums est utile et souvent nécessaire à plusieurs points de vue : α) pour établir le titre des agglutinines qui doit être élevé (supérieur à 1 16) pour les sérums-tests; β) pour établir le titre des agglutinines qui doit être relativement peu élevé dans les sérums des donneurs de sang.

c) Le contrôle de la spécificité des sérums doit être fait en tenant compte des causes d'erreur qui peuvent intervenir dans les réactions d'iso-agglutination.

9. Les échantillons de globules étalons qui servent à la préparation de suspensions globulaires, sont difficiles

à conserver. Pour le titrage des sérums-tests, il faut utiliser des globules-étalons provenant toujours des mêmes sujets.

10. *a)* Les causes d'erreur dans les déterminations de groupe et dans les épreuves de compatibilité sont nombreuses.

Le défaut d'agglutination par la présence de globules résistants non agglutinés par les sérums-tests trop peu actifs, est particulièrement fréquent lorsqu'il s'agit des globules A ou A B (faisant probablement partie des sous-groupes A 2 et A 2 B). Il en résulte que :

A est faussement groupé O et que

AB est faussement groupé B.

b) La pseudo-agglutination est particulièrement fréquente lors des épreuves directes de compatibilité, faites sur lame. Elle est due au pouvoir empilant des sérums frais.

La méthode de centrifugation est un bon moyen pour la dépister et pour l'éviter.

Dans les cas de diagnostic particulièrement difficiles, il faut avoir recours aux méthodes d'absorption quantitative des sérums et d'épuisement répété.

Vu, le Président de thèse :
G. CANUYT.

Vu, le Doyen :
André FORSTER.

Vu et permis d'imprimer.
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,
J. DRESCH.

BIBLIOGRAPHIE

1. Schiff F. — Technik der Blutgruppenuntersuchung für Kliniker und Gerichtsärtze. Berlin, Verlag von Julius Springer, 1932.
2. Lattès L. — L'individualité du sang en biologie, en clinique et en Médecine Légale. Masson et Cie, éditeur, 1929.
3. P.-E. Weil et M. Lamy. — Remarques sur les incompatibilités sanguines. Fixité du groupe sanguin. Le sang, N° 7, 1932.
4. Landsteiner K. — Serologische Individualdifférenzen und die menschlischen Blutgruppen. Wiener Medizinische Wochenschrift LXXVII, 4 juin 1927.
5. Wellisch S. — Ein mathematisches Blutgruppengesetz. Wiener Med. Wochenschrift, N° 38, p. 1.286, 1927.
6. Thomsen. — Friedenreich und Worsae : Die wahrscheinliche Existenz eines neuen, mit den drei bekannten Blutgruppengenen (O, A, B) allelomorphen A' benannten Gens. Klin. Wochenschrift Berlin Januar, 1930, t. IX, n°2.
7. Lehmann-Facius. — Qualitative Verschiedenheit der beiden Typen der Blutgruppe A. Klin. Wochenschrift Berlin, n° 29, Juli 1933, p. 1.223.
8. Thomsen O. — Der Unterschied in dem Verhalten der beiden menschlichen A. Blutgruppen (A u. A') gegenüber Anti - A - Lysin (in O und B Sera) Münch. Mediz. Wochenschrift 11-7-1930. t. LXXVII, N° 28, p. 1.190.

9. Ottensooser und Zurukzoglu. — Unterscheidung der Untergruppen Al und A2 durch die Pepsinhemmungsreaktion. Klin. Wochenschrift Berlin 8-10-1932, n° 41, S. 1715.
10. Blinov. — Eine vereinfachte Methode zur Differenzierung der Untergruppen Al und A2. Klin. Wochenschrift Berlin, 14 Juli 1934, n° 28, S. 1025-1026.
11. Worsae. — Ein Fall von scheinbarer O-Gruppe bei einem Klinde von einem AB Elter. Klin. Wochenschrift Berlin. 17. Mai 1930. n° 20. S. 938.
12. Haselhorst. — Blutgruppen und Vaterschaft. Klin. Wochenschrift Berlin, 1927, n° 32, Seite 1539.
13. Barbier. — Changement de groupe sanguin après une pylorectomie pour ulcère. Soc. Méd. des Hôp. de Lyon. Presse Médicale, n° 11, 6 février 1935 .
14. Spitzmuller W. — Uber Bluttransfusion. Wiener Mediz. Wochenschrift, 1927, n° 10, p. 317-322.
15. Schroeder. — Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der gruppenspezifischen Agglutinine, zugleich ein Beitrag zur Theorie des Mechanismus der Iso-Hämoagglutination. Zeitschrift für Immunforschung 65, p. 81, 1930.
16. C. Simonin. — Le Contrôle hématologique d'un Centre de Transfusion sanguine d'urgence. Presse Médicale, n° 66, 15 août 1936.
17. Landsteiner. — Zur Frage der Gruppenbestimmung bei Transfusionen. Klinische Wochenschrift Berlin. 15. Januar 1928. n° 7, p. 112-113.
18. Tzanck, Moline, Paris. — Les Epreuves directes de compatibilité sanguine (leur infidélité). Bull. et Mém. de la Soc. méd. des Hôp. de Paris; séance du 3 décembre 1933.
19. C. Simonin. — Réactions sanguines paradoxales observées à l'occasion des transfusions. Strasbourg médical, n° 4, 5 février 1935.
20. Unger. — Indikation et Technik der Bluttransfusion (s. Schiff: Technik der Blutgruppen untersuchungen für Kliniker und Gerichstärzte. Julius Springer. Berlin, 1932).

21. Bécart. — Le Sang. Abrégé d'Hématologie. Doin, Editeur, 1927.

22. Benda. — « Les dangers de la transfusion chez les sujets à sang instable ». Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris. Séance du 22 novembre 1934.

23. Paris. — Les épreuves de compatibilité sanguine en vue de la transfusion de sang. Thèse Paris, 1932. Le François, Editeur.

24. G. Canuyt et C. Wild. — Le traitement des hémorragies et la transfusion sanguine d'urgence en O.R.L. Masson et Cie, Editeurs, 1935.

25. Benda. .. De la recherche directe des compatibilités sanguines (à la suite de la communication de Tzanck-Moline-Paris). Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris. Séance du 10 novembre 1933.

26. A. Coro del Pozo. — L'Epreuve de la centrifugation pour la détermination des compatibilités sanguines. Thèse, Paris, 1935. Jouve Editeur.

27. Agasse-Lafont. — Les Applications pratiques du Laboratoire de la Clinique. Vigot, Editeur, Paris, 1929.

28. Moureau P. — Contribution à l'étude des facteurs d'individualisation du sang humain et leurs applications en Médecine Lég. Thèse d'agrégation. Louvain. Etabl. Fr. Ceuterick, 1935, Liège.

29. Ponsold. — Die Bestimmbarkeit der Blutgruppenzugehörigkeit an frischem Blut in der Kapillare. Münch. Med. Wochenschrift. 13 Oktober 1933, n° 41.

30. Lutzeler. — Untersuchungen über die Einwirkung des Isoagglutination auf die roten Blutkörperchen und über die Einwirkung des Allgemeinspenderblutes nach der Bluttransfusion. Munch. Mediz. Wochenschrift. 22 septembre 1933, n° 38, p. 1.487.

31. Thomsen O. — Einige Bemerkungen über die Vorprobe bei der Wahl eines Spenders zur Bluttransfusion. Klin. Wochenschrift. Berlin. 18 Novembre 1933, n° 46, p. 1.801.

32. Blinov und Zazkin. — Die Herstellung Isoagglutinierender Testsera aus Retroplacentarblut. Klin. Wochenschrift. 11 Janv. 1936. n° 2.

33. Laguna. — Uber scheinbares Fehlen des A-Rezeptors in der Gruppe AB. Klin. Wochenschrift. Berlin, 1930, S. 547.

34. Zundell. — Blutgruppenbestimmungen speziell bei Blutkrankheiten. Klin. Wochenschrift Berlin. 3. Dezember 1933. n° 48.

35. Farjot et Spriet. — Le taux des iso-agglutinines du sérum des individus du groupe O; importance à plusieurs points de vue. Annales de Méd. Lég. Octobre 1934, n° 8.

36. Halter. — Tödlicher Zwischenfall nach Bluttransfusion. Wiener Klinisch Wochenschrift, 1930, p. 236.

37. Wildegans. — Todesfälle nach Bluttransfusion. Deutsche Mediz. Wochenschrift, 1930, n° 48.

38. Hesse. — Uber die Verwendung des sogenannten Universalspenders bei der Bluttransfusion. Klin. Wochenschrift Berlin, 1936, 4-IV, p. 469, n° 14.

39. Grunewald. — Vorschläge zur Einführung eines einheitlichen Blutspenderausweises. Münchener Med. Wochenschrift. 21 Avril 1933, n° 16, p. 616.

40. Moureau. — La transfusion sanguine : les directives actuelles du problème après le premier Congrès international de la Transfusion, tenu à Rome, en septembre 1935. Strasbourg Médical, 15 mai 1936, n° 14.

41. P.-E. Weil et Lamy. — Sur une cause d'erreur dans la détermination des groupes sanguins due au vieillissement des sérums-étalons. Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris, 1924, n° 21.

42. Grootten et Kossovitch. — Classification des groupes sanguins chez les Alsaciens. Soc. de Biol. de Strasbourg, 13 mars 1931.

43. Le Rasle. — Les groupes sanguins et leur importance dans la transfusion du sang. Thèse, Paris, 1926. Arnette Editeur.

44. Blinov. — Untersuchungen über Standard Sera in Form von Pulvern und Stiften. Klin. Wochenschrift. Berlin, 18-1-1936, n° 3, p. 89.

45. Ottensooser u. Zurukzoglu. — Uber eine gruppenspezifische Reagensglasreaktion der Erythrocyten Stromata. Klin. Wochenschrift. Berlin, 23-4-1932, n° 17, p. 719.

46. Blinov und Solovjera. — Uber die Verwendung von Standarderythrocyten zur Agglutinationsreaktion. Klin. Wochenschrift. Berlin, 19-10-1935, n° 42, p. 1.516.

47. Fritz. — Beitrag zur Kenntnis der Fehlerquellen bei Blutgruppenbestimmung. Klin. Wochenschrift. Berlin, 5 Jan. 1935, p. 38.

48. Schiff. — Die Blutgruppen und ihre Anwendungsgebiete. Verlag Julius Springer, Berlin 1933.

49. G. Rosenthal. — De l'épreuve directe au contrôle des groupes dans la transfusion sanguine. Revue de Pathologie comparée et d'Hygiène générale. N° 464, mai 1935.

50. Benda et Coro del Pozo. — L'épreuve de la centrifugation dans la détermination des compatibilités sanguines. Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris. Séance du 25-1-1935. N° 3, p. 139 à 160.

PLAN DU TRAVAIL

pages

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I. — L'iso-hémo-agglutination. Les groupes d'iso-agglutination de Landsteiner. Fixité, transmission héréditaire des groupes sanguins. Les sous-groupes A1, A2 et A1B et A2B 3

CHAPITRE II. — Le contrôle hématologique du Centre de Transfusion sanguine d'urgence de l'Hôpital civil de Strasbourg 8

Choix du donneur au point de vue sérologique :

a) Séance de triage,

b) Séance de contrôle.

CHAPITRE III. — Les épreuves courantes 13

a) Les épreuves directes : de Nurnberger, de Jeanbrau;

b) L'épreuve biologique : d'Oehlecker;

c) Les épreuves indirectes : de Beth-Vincent. des sérums.

Avantages et inconvénients des méthodes de réaction d'iso-agglutination sur lame.
Les méthodes de réactions d'iso-agglutination en tubes.
Les épreuves de la centrifugation.
Méthode de Schiff;
Méthode de Coro del Pozo.
Méthode des tubes capillaires.
Méthodes microscopiques.
Epreuves non baseés sur l'iso-agglutination.

Chapitre IV. — Les sérums-tests 32
Sélection des donneurs de sérums-tests;
Préparation des sérums-tests;
Titrage des sérums-tests;
Sélection des sérums-tests actifs;
Titrage des sérums des donneurs universels;
Contrôle de la spécificité des sérums-tests;
Conservation des sérums-tests.

Chapitre V. — Les globules-étalons 49
Sélection des donneurs de globules-étalons;
Titrage des échantillons globulaires;
Préparation des suspensions globulaires;
Conservation des globules étalons.

Chapitre VI. — Les causes d'erreur 56
a) Le défaut d'agglutination :
α) iso-agglutinines faibles, globules résistants;
β) globules trop concentrés;
γ) iso-agglutinations tardives.

b) Les groupes aberrants ;
Manque d'agglutinine.
Agglutinines irrégulières.
c) Les fausses agglutinations ;
Pseudo-agglutination ;
Pan-agglutination ;
Phénomène de Hubener-Thomsen.
d) Technique d'examen dans les cas difficiles.

CONCLUSIONS 65

BIBLIOGRAPHIE 68

PLAN DU TRAVAIL 73